Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. H. J. Heidrich

Versuche über die Verwendung von Gelatine und Tranquilizer in der Eberspermakonservierung

---

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Walter Meyer
Tierarzt aus Maaslingen, Kreis Minden

Berlin 1965
Journal-Nr. 508

Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H. J. H e i d r i c h

Versuche über die Verwendung von Gelatine und Tranquilizer in der Eberspermakonservierung

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Walter M e y e r
Tierarzt aus Maaslingen, Kreis Minden

Berlin 1965
Journal-Nr. 508

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. J. Boch

Referent: Prof. Dr. H. J. Heidrich

Korreferent: Prof. Dr. E. Becker

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Tag der Promotion: 23.7.1965

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literaturübersicht	2
1. Das Ejakulat des Ebers	2
2. Samenverdünnung	7
3. Magermilchverdünner	9
4. Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner	10
5. Eidotter zur Samenverdünnung	11
6. Die Spermiensedimentation	12
7. Stoffwechselhemmer in der Spermakonservierung	13
C. Eigene Untersuchungen	15
1. Material und Methodik	15
2. Versuchsergebnisse	20
a) Spermatologische Untersuchungsergebnisse	20
b) pH-Werte der Verdünner und deren Viskosität	[illegible]
c) Die Spermiensedimentation im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner ohne Gelatinezusätze	22
1) Magermilchverdünner (Verdünner I)	22
2) Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II)	26
3) Besprechung der Sedimentierungsergebnisse	30
d) Die Spermiensedimentation im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Gelatinezusätzen	31
1) Magermilchverdünner (Verdünner I)	31
2) Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II)	38
3) Besprechung der Sedimentierungsergebnisse	44

Seite

e) Konservierungsergebnisse im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Zusätzen von 350 und 525 mg % Gelatine 45
1) Magermilchverdünner (Verdünner I) 45
2) Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II) 49
3) Besprechung der Konservierungsergebnisse 53

f) Konservierungsergebnisse im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner unter Zusatz von Tranquilizern 54
1) Vorversuche 54
2) Magermilchverdünner (Verdünner I) 55
3) Besprechung der Ergebnisse 63
4) Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II) 63
5) Besprechung der Konservierungsergebnisse 72

D. Diskussion der Ergebnisse 73

E. Zusammenfassung 78

F. Literaturverzeichnis 80

A. EINLEITUNG

Obwohl die Schweinebesamung in einigen Ländern schon ei.. praktische Bedeutung erlangt hat, ist die hauptsächliche Forderung, die man an die Ebersamenkonservierung stellt, nämlich die Aufrechterhaltung der Befruchtungsfähigkeit des konservierten Samens über eine längere Zeit, noch nicht zufriedenstellend gelöst worden.
Einige Autoren sind der Meinung, daß die Ursachen hierfür unter anderem in der sehr schnellen Sedimentierung der Spermien in der Samenverdünnung zu suchen sind und daß die starke Kumulation von Stoffwechselendprodukten im Samensediment einen sehr schnellen Zelltod bedingt.
Bei der Konservierung von Bullensperma ist in der letzten Zeit mit unterschiedlichem Erfolg versucht worden, den Spermastoffwechsel durch Tranquilizerzusätze reversibel zu hemmen und somit eine längere Aufrechterhaltung der Lebens- und Befruchtungsfähigkeit der konservierten Samenzellen zu erzielen. Berichte über die Anwendung von Tranquilizern liegen aus der Eberspermakonservierung bislang nicht vor.

Deshalb wurde mir von Herrn Professor Dr. H e i d r i c h die Aufgabe gestellt, die Spermiensedimentierung in zwei verschiedenen Verdünnern mit und ohne Zusatz von Gelatine zu kontrollieren und in Konservierungsversuchen die Eignung sowohl von Gelatine als auch verschiedener Tranquilizerarten in unterschiedlichen Konzentrationshöhen zu untersuchen.

B. LITERATURÜBERSICHT

1. Das Ejakulat des Ebers

Die Ejakulation erfolgt beim Eber nach heftigen Friktionsbewegungen in Sekretschüben, die man in drei Fraktionen einteilen kann.
Die erste Fraktion, die Vorphase, besteht aus wenigen Millilitern wässrigen Sekretes der Urethraldrüsen und enthält keine Spermien (POLGE, 1956; BIALY u. SELF, 1959; WILLEMS, 1959; MANN, 1961). In der zweiten Fraktion, der ersten Hauptphase, werden etwa 82 % der gesamten Spermien des Ejakulates abgegeben (ITO u. Mitarb., 1948). Neben den Nebenhodenspermien und dem Sekret der Prostata sind dieser Fraktion in geringem Grade die klebrigen, sagoähnlichen Sekretflocken der Bulbourethraldrüsen beigemischt (McKENZIE u. Mitarb., 1938; GÖTZE, 1949; MANN, 1954; BAIER u. GRAUVOGEL, 1959 u.a.). In der dritten Ejakulatsfraktion, der 2. Hauptphase erfolgt die Abgabe des Sekretes der Samenblasen- und der Bulbourethraldrüsen vermischt mit den restlichen Spermien des Ejakulates (GÖTZE, 1949; HERRICK, 1949; GLOVER, 1955 u.a.).
Zwischen den einzelnen Fraktionen bestehen fließende Übergänge, so daß auch bei der fraktionierten Spermagewinnung die Sekrete der einzelnen Phasen nicht exakt voneinander getrennt aufgefangen werden können (MANN, 1961).
Die Gesamtmenge des Ejakulates ist sehr unterschiedlich und kann zwischen 50 und 1000 ml betragen (McKENZIE u. Mitarb., 1938; GÖTZE, 1949; DZIUK, 1958).
Die Ejakulatsmenge ist abhängig von der individuellen Anlage, der Rasse, dem Alter und im besonderen Maße von der Ernährung, der Haltung und der Geschlechtsbeanspruchung des Ebers (GÖTZE, 1949; AAMDAL u. HÖGSET, 1957; MILOWANOW, 1957 u.a.). Die Anteile der Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen am Gesamtejakulat betragen für die Samen-

blasen 10 - 30 %, die Prostata 35 - 60 %, die Bulbourethraldrüsen 15 - 30 % und der Sekretanteil der Nebenhoden 2 - 5 % (McKENZIE u. Mitarb., 1938; GÖTZE, 1949).

Das vor der eigentlichen Ejakulation während der Friktionsbewegungen abspritzende Sekret hat einen spezifischen Geruch, der durch den gleichzeitig mit abgegebenen Inhalt des Präputialbeutels bedingt und wenig spermienfreundlich ist (ANDERSON, 1945; GLOVER, 1955 u.a.).
Das Samenblasensekret ist mit seinem hohen Anteil an Fruktose und Zitronensäure in erster Linie als Nährsubstanz der Spermien zu betrachten (GLOVER u. MANN, 1954).

Das gelatinöse, sagoähnliche Sekret der Bulbourethraldrüsen führt durch seinen hohen Elektrolytgehalt zu irreversiblen Schädigungen der Samenzellen, wenn man es länger im Ejakulat beläßt. Dieses Sekret nimmt durch Flüssigkeitsaufnahme aus der Umgebung rasch an Volumen zu und wird zu einer gallertartigen Masse (GÖTZE, 1949; POLGE, 1956). Nach ITO und Mitarbeitern (1948) vergrößert sich sein Volumen in 24 Stunden auf das Dreifache. Es übernimmt nach Ansicht der Autoren beim natürlichen Paarungsvorgang die Funktion eines physiologischen Cervixverschlusses und verhindert somit den Rückfluß des Samens aus dem Uterus (MANN, 1954; GLOVER, 1955; AAMDAL u. Mitarb., 1958; POLGE, 1960 u. a.).

Die Abtrennung dieser Drüsensekrete ist für die weitere Behandlung des Samens zur Konservierung und zur anschließenden künstlichen Besamung von großem Interesse. Sie wird durch fraktionierte Samengewinnung und durch Abfiltern der sagoähnlichen Bestandteile erreicht (DZIUK, 1958; BIALY u. SELF, 1959; KWASNITZKI, 1959; ROTHE, 1960; WETTKE u. HUHN, 1962 u.a.).

Wie die Menge der Ejakulate, so ist auch die Spermiendichte großen Schwankungen unterworfen (GÖTZE, 1949; POLGE, 1956; WILLEMS, 1959). So lassen sich in der vorliegenden Litera-

tur große Unterschiede in den Angaben über die Spermiendichte finden. Die folgende Übersicht gewährt einen Einblick in die Unterschiedlichkeit dieser Werte:

GÖTZE	(1949)	50000 - 1 000000	Spermien mml
POLGE	(1956)	10000 - 1 000000	Spermien "
RIDDEL-SWAN	(1960)	200000 - 250000	Spermien "
HOFFMANN	(1959)	103000 - 940000	Spermien "
PAREDIS	(1959)	44000 - 242000	Spermien "
ROHLOFF	(1964)	135000 - 750000	Spermien "

Die zuverlässigste Methode zur Dichtebestimmung im Ejakulat ist die Auszählung der Spermien in der Blutkörperchenzählkammer (ANDERSON, 1945; GÖTZE, 1949). Eine einfache Schätzung nach dem Trübungsgrad des Ejakulates kann nur grobe Hinweise geben. Brauchbar ist die Bestimmung der Spermiendichte mit dem Spermiodensimeter nach KARRAS durch visuelle Beurteilung des Trübungsgrades einer Ejakulatsverdünnung mit 0,9 %iger Kochsalzlösung. Bei einem Vergleich mit Kontrollzählungen, die in der Blutkörperchenzählkammer durchgeführt wurden, ergaben sich Differenzen, die ± 10 % nicht überschritten (WETTKE u. HUHN, 1962).

Die Dichte ist zwar nicht allein als Qualitätsmerkmal für das Ejakulat entscheidend, jedoch scheiden Ejakulate mit zu geringer Spermiendichte von vornherein für die Verwendung zur Konservierung und künstlichen Besamung aus. GÖTZE forderte als Minimum eine Dichte von 50 - 150000; ROTHE (1960) verwendete kein Sperma, das nicht mindestens eine Dichte von 225000 Spermien/mml aufwies.
Neben der Dichtebestimmung ist vor allem die mikroskopisch-spermatologische Untersuchung des Ejakulates von Bedeutung. Die mikroskopische Bestimmung der Spermienbeweglichkeit und die Feststellung pathologischer Spermienformen geben neben Mengen- und Dichtebestimmungen zuverlässige Hinweise für die Qualität des Ejakulates. Es wird unterschieden zwischen

der Massenbewegung und der Einzelbewegung der Spermien. Massenbewegung kann nur in sehr dichten Ejakulaten beobachtet werden. In Eberejakulaten wird sie meist nur in der fraktioniert gewonnenen 1. Hauptphase festgestellt (GÖTZE 1949; HOFFMANN, 1959).
Bei der Einzelbewegung wird der prozentuale Anteil intensiv vorwärtsbeweglicher Spermien beurteilt. Als vorwärtsbeweglich werden solche Spermien angesehen, die eine nahezu gradlinige aktive Vorwärtsbewegung bei gleichzeitigem Rotieren um die Längsachse und eine dreidimensionale Schwanzwelle haben (RIKMENSPOEL u. Mitarb., 1960; PAREDIS, 1961 u.a.). Als abnorme Bewegungsformen der Spermien werden die Orts-, Kreis- und Rückwärtsbewegung angesehen.

In den Ejakulaten sind stets morpholisch veränderte und unreife Spermien anzutreffen. Der prozentuale Anteil dieser pathologischen Formen beträgt im normalen Ejakulat nach Angaben verschiedener Autoren 8 - 15 % (GÖTZE, 1949) beziehungsweise 0,2 - 15,5 % und im Durchschnitt 5,6 % (ITO u. Mitarb., 1948).
Werden diese Prozentsätze wesentlich überschritten (20 - 50 %), so wird die Befruchtungsfähigkeit des Samens ganz erheblich gemindert oder kann vollständig erlöschen (GLOVER, 1955).

Die Reaktion im Gesamtejakulat ist bedingt durch die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und liegt im allgemeinen im alkalischen Bereich. In der Literatur werden folgende pH-Werte für das Eberejakulat angegeben:

GÖTZE	(1949)	7,0 - 7,8
JOHARI	(1956)	7,4 - 8,26
NIWA	(1958)	6,7 - 7,3
HOFFMANN	(1959)	7,2 - 7,8
RIDDEL-SWAN	(1960)	6,7 - 7,3
LIESS u. GROVE	(1963)	7,4 - 7,5
WETTKE u. ROHLOFF	(1964)	7,3 - 7,6

Der Viskositätsgrad des Eberejakulates beträgt bei einer Temperatur von 10°C etwa 2,658 cP. Die Viskosität im Ejakulat ist unter anderem abhängig von seiner Spermiendichte (NIWA u. Mitarb., 1952).

Von großer Bedeutung für die Verdünnung und Konservierung des Ebersamens ist seine Reaktion auf äußere Einflüsse. Die Spermien unterliegen im Ejakulat wesentlich anderen Verhältnissen als im Nebenhoden. Durch die Sekrete der akzessorischen Drüsen, deren Gesamtanteil am Ejakulat 99 - 99,5 % beträgt (SCHAETZ, 1963), wird für die Spermien ein [illegible] Milieu geschaffen (GÖTZE, 1949).
[illegible] wirken sich ungünstig auf die Lebensdauer der Spermien aus. Vor allem bilden die Sekrete der Bulbourethral- und der Urethraldrüsen für die Konservierung einen ungeeigneten Faktor (ROTHE, 1960). Bei Zimmertemperatur leben die Spermien im fraktioniert gewonnenen Ejakulat ohne Vorsekret und ohne Bulbourethraldrüsensekret 8 - 12 Stunden, während ihre Lebensdauer im Gesamtejakulat unter gleichen Bedingungen nur 5 Stunden beträgt (ROTHE, 1960).
Besonders empfindlich sind die Spermien gegen zahlreiche Einflüsse, die auf dem Wege von der Samenentnahme bis zur Besamung unbedingt zu vermeiden sind. Vor allem kommen dabei sämtliche Desinfektionsmittel in Frage, die bereits in geringen Konzentrationen die Spermien abtöten. Außerdem werden durch Säuren, Seifen, Leitungswasser, ungereinigtes Oel und Vaseline [illegible] 1934; OLBRYCHT, 1938; BONADONNA, 1941). [illegible] Temperaturänderungen können die Lebensdauer der Spermien erheblich [illegible]. Bei Temperaturen von + 46°C hört jede Bewegung auf (OLBRYCHT, 1938). Bei direkter Sonneneinstrahlung sterben die Spermien innerhalb von 30 Minuten durch Wärmeeinwirkung ab (KUSNEZOW u. Mitarb., 1932; OLBRYCHT, 1938; ITO u. Mitarb., 1948).

Bei Körpertemperaturen halten die Spermien im Gesamtejakulat ihre Vorwärtsbewegung 6 - 8 Stunden lang aufrecht ([illegible], 1956). Nach dieser Zeit fällt der Prozentsatz der

vorwärtsbeweglichen Spermien rasch ab und die Samenzellen gehen zugrunde. Wird das Ejakulat auf Temperaturen zwischen 15 und 20°C abgekühlt, werden die Spermien in einer Zeit von 2 bis 3 Stunden fast unbeweglich. Sie können rasch durch Erwärmung auf 37°C reaktiviert werden (ITO u. Mitarb., 1943).
Nach einer Konservierungszeit von 2 - 3 Tagen bei + 15°C zeigte das Sperma noch einen hohen Anteil an Vorwärtsbeweglichkeit. Abkühlungen unter + 10°C scheinen dagegen im Gesamtejakulat zunehmend schädigend auf die Spermien einzuwirken. In der fraktioniert gewonnenen spermareichen 1. Hauptphase konnte dagegen bei einer Konservierungstemperatur von + 5°C noch nach 8 - 10 Tagen eine gute Spermienaktivität nach Reaktivierung beobachtet werden (POLGE, 1956; [illegible]).

Eine rasche Abkühlung des Ejakulates kann zum Kälteschock und damit zu Schädigungen der Spermien führen. Bei Abkühlungen bis auf + 20°C kommt der Kälteschock nicht zustande (GÖTZE, 1949). Deshalb ist eine langsame Abkühlung unterhalb + 20°C erforderlich. DZIUK (1958) kühlte das Sperma von + 24° auf + 7°C stündlich um weniger als 5° ab.

Neben den vorstehend aufgeführten äußeren Einflüssen, die sich negativ auf die Überlebensrate der Spermien auswirken, kann eine durch Kumulation von Milchsäure, die bei der Glykolyse gebildet wird, oder durch H_2O_2, das durch fermentativen Abbau bestimmter Aminosäuren entsteht, ein schneller Zelltod herbeigeführt werden (SCHAETZ, 1963).

2. Samenverdünnung

Eine der wichtigsten Voraussetzungen für den Erfolg der künstlichen Besamung beim Schwein ist die Erhaltung der vollen Befruchtungsfähigkeit des Ebersperma über mehrere Tage. Es sollten ständig qualitativ optimale Ejakulate zur Konservierung gelangen. Diese sind nur zu gewinnen, wenn die

Sprungintervalle der Eber so eingerichtet werden, daß ihre Geschlechtslust unvermindert anhält und die Qualität des Spermas gut bleibt (ROTHE, 1963). Bei täglicher Samenentnahme nimmt die Güte des Ejakulates im allgemeinen ständig ab, besonders die Spermiendichte wird erheblich geringer (KARG u. LEIDL, 1959; WILLEMS, 1959). Es wird die Ansicht vertreten, daß Samenentnahmen mit Intervallen von 48 - 72 Stunden, beziehungsweise 2 - 3 mal wöchentlich ohne Qualitätsminderungen möglich sind (AAMDAL u. HÖGSET, 1957; DZIUK, 1958; NIWA, 1958; ROTHE, 1963).

Wichtig für die Erhaltung der optimalen Samenqualität ist die Behandlung des Ejakulates vom Zeitpunkt der Entnahme bis zur Verdünnung. So werden die bei der Verdünnung und Konservierung störenden und schädlichen gelatinösen, sagoähnlichen Sekrete der Bulbourethraldrüsen durch sterile Gaze abfiltriert (NOLL, 1949; AAMDAL u. HÖGSET, 1957; NIWA, 1958; ROTHE, 1960; ROHLOFF, 1964; WETTKE u. ROHLOFF, 1964). Anschließend erfolgt eine Abkühlung des Ejakulates auf 22 - 24°C (DZIUK, 1958; WETTKE u. HUHN, 1962). Die Verdünnung sollte danach innerhalb einer Stunde durchgeführt werden (SMIDT, 1964).

Der Verdünner soll für die Lebenserhaltung der Spermien in vitro ein Milieu schaffen, das eine ernährende, schutzkolloidale und puffernde Wirkung hat (HOFFMANN, 1959). So werden für die Herstellung der Verdünner allgemein Citrat- und Phosphatverbindungen, Glyzin, Glukose, Fruktose, Eidotter und Milch in verschiedenen Konzentrationen und Zusammenstellungen verwendet. Nach GÖTZE (1949) hat auch elektrolytfreie, sterile Gelatine in 3 - 5 %iger Konzentration im Verdünner eine schutzkolloidale Wirkung auf die Spermien in vitro.

Da eine keimfreie Gewinnung des Ejakulates nicht möglich ist, die Keimzahlen pro Milliliter Sperma liegen bei 200 - 25000 (WETTKE u. HUHN, 1962), bei NIWA (1958) sogar zwischen 5000 - 2 200000, sind keimhemmende Zusätze in Form

von Antibiotika und Sulfonamiden zum Verdünner unerläßlich. Als Verdünner-Zusätze wurden pro ml angegeben: 1000 I.E. Penicillin und 1 mg Streptomycin (AAMDAL u. HOGSET, 1957; DZIUK, 1958; WETTKE u. HUHN, 1962). VAN DEMARK und SHARMA (1957), DU MESNIL DU BUISSON und DAUZIER (1958) sowie ROTHE (1960) verwendeten 0,3 g Sulfanilamid auf 100 ml Verdünner. Diese Dosierungen wurden von verschiedenen Untersuchern unterschritten beziehungsweise in der Zusammenstellung variiert. So wurde von folgenden Antibiotikascheren berichtet:

500 I.E. Penicillin und 0,5 mg Streptomycin
ADDEN, 1959; SPREMBERG, 1964)

250 I.E. Penicillin und 0,25 mg Streptomycin
(KVASNITZKI, 1959)

nur 1 mg Streptomycin (BIALY u. SELF, 1959)

nur 500 I.E. Penicillin (WILLEMS, 1959)

neben 1000 I.E. Penicillin noch 0,8 mg Streptomycin
(PAREDIS, 1961)

3. Milchverdünner

Die Milch ist aufgrund ihrer günstigen chemischen Zusammensetzung und ihrer physikalischen Eigenschaften besonders gut als Spermaverdünner geeignet (ALMQUIST, 1954). PRACHOFF (1958) berichtete, daß mit milchverdünnten, konservierten Ejakulaten bei Rindern, Schafen und Stuten gute Befruchtungserfolge erzielt wurden.
Auch bei der Eberspermakonservierung ist die Milch in den verschiedensten Zubereitungen als Verdünner in den vergangenen Jahren vielfach untersucht und mit anderen Verdünnern verglichen worden.
Bei der Zubereitung der Milchverdünner ist es erforderlich, sowohl Frischmilch als auch resuspendiertes Trockenmilchpulver für 10 Minuten auf 77 - 95°C zu erhitzen, um das

spermatoxische Lactenin, das an das Laktalbumin gebunden ist, unwirksam zu machen (THACKER u. Mitarb., 1954).
Für die Herstellung milchhaltiger Verdünner wird Vollmilch und Vollmilchpulver verwendet (IRWIN, 1959; NIWA u. Mitarb., 1959; ROTHE, 1960; SPREMBERG, 1964 u.a.), Magermilch und Magermilchpulver (DZIUK, 1958; KWASNITZKI, 1959; PAREDIS, 1959; POLGE, 1959; WILLEMS, 1959; WETTKE u. HUHN, 1962; ROHLOFF, 1964 u.a.) und schließlich sind auch Verdünner mit Kondensmilch erprobt worden (HOFFMANN, 1959; JAKOBSEN, 1[illegible]; JAKOBSEN u. MANN, 1960; SPREMBERG, 1964 u.a.).
Die verwendeten Milchpulver-Konzentrationen lagen bei diesen Autoren zwischen 7,5 und 10 g auf 100 ml Aqua destillata. Weder Vollmilch noch resuspendierte Vollmilchpulver sind den Magermilchverdünnern in ihrer konservierenden Wirkung überlegen. Sie haben jedoch den Nachteil, daß durch die Anwesenheit der Fettkügelchen die spermatologische Untersuchung sehr erschwert ist (WETTKE u. HUHN, 1962; SPREMBERG, 1964 u.a.).
Für die Herstellung von Milchverdünnern sind Trockenmilchpulver besonders geeignet, da sie von gleichbleibender Qualität sind und eine gute Lagerfähigkeit besitzen (PAREDIS, 1959; WETTKE u. HUHN, 1962; SMIDT, 1964).
Die Milchverdünner scheinen sowohl für die Konservierung von Ebersperma bei Temperaturen zwischen + 10 und + 20°C als auch zwischen 0 und + 5°C geeignet zu sein (PAREDIS, 1959; POLGE, 1959). KWASNITZKI (1959) wies daraufhin, daß die Milch als Samenverdünner keinen ungünstigen Einfluß auf die Uterusmucosa befürchten läßt.

4. Natriumzitrat-Verdünner

Durch die guten Erfahrungen, die man bei der Bullensamenkonservierung mit Natriumzitratverdünnern gemacht hatte (SOMERSTEN, 1936; SALISBURY u. Mitarb., 1941), ist dieser

Verdünner mehrfach auch für die Konservierung von Ebersamen untersucht worden (AAMDAL u. HÖGSET, 1957; YOUNG u. Mitarb., 1957; FOOTE u. Mitarb., 1959; AAMDAL, 1960).

Bei der Zubereitung der Natriumzitratverdünner wurde vor allem Eidotter in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt (NOLL, 1949; AAMDAL u. HÖGSET, 1957; BANE, 1959; JAKOBSEN, 1959; PAREDIS, 1959; ROHLOFF, 1964; HEIDRICH u. Mitarb., 1964; v. PUSCH, 1965). Neben dem Eidotter wurden vielfach Glukose und Glyzin verwendet (YOUNG u. Mitarb., 1957; HOFFMANN, 1959; NIWA u. Mitarb., 1959; MILOWANOW u. SOKOLOWSKAJA, 1960; ROTHE, 1960 u.a.). Der Gehalt an Natriumzitrat wurde bei diesen Autoren zwischen 0,33 und 3,5 % angegeben.

5. Eidotterzusätze zur Samenverdünnung

Die Konservierungsergebnisse des Bullenspermas wurden durch Eidotterzusätze zum Verdünner eindeutig verbessert. Vergleichende Untersuchungen von BONADONNA (1940) mit einer großen Zahl Verdünnungsflüssigkeiten ergaben, daß Verdünner, die Eidotter enthielten, solchen ohne Eidotter in ihrer Konservierungsfähigkeit für Bullenejakulate deutlich überlegen waren. Diese guten Eigenschaften des Eidotters in der Konservierung des Bullenspermas sind bis heute immer wieder bestätigt worden. In seiner Zusammensetzung enthält der Eidotter sowohl Nährsubstanzen als auch Schutzkolloide für die Spermien und sorgt als Puffer für die Erhaltung eines günstigen pH-Wertes im Verdünner. Von Nachteil ist es, daß in eidotterreichen Verdünnern die spermatologische Untersuchung durch die Dotterkügelchen sehr erschwert ist und eindeutige Beweglichkeitswerte der Spermien außerordentlich schwer festzustellen sind (WETTKE u. HUHN, 1962). Durch Entfernen der störenden Eidotterbestandteile wurden besondere Voraussetzungen für die mikroskopische Untersuchung und Beurteilung von Samenkonserven geschaffen. Über solche optisch klaren Eidotter-Verdünner

berichteten RIKMANSPOEL (1957), LINDAHL und WEDIN (1959), STRÖM und WEDIN (1961) sowie WETTKE und Mitarbeiter (1962)

RIKMANSPOEL (1957) und WETTKE und Mitarbeiter (1962) erhielten den klaren Eidotterverdünner indem sie den Verdünner zentrifugierten und lediglich den klaren Überstand verwendeten. LINDAHL und WEDIN (1959) erreichten die Klärung durch Sedimentation der Dotterbestandteile nach 48-stündigem Stehenlassen des Verdünners bei + 2°C im Kühlschrank.

Im Besamungsversuch an Rindern ergab sich kein Unterschied zwischen der Verwendung eines durch Zentrifugieren optisch geklärten und eines normalen nichtsedimentierten Eidotterzitratverdünners (STRÖM u. WEDIN, 1961).

In der Eberspermakonservierung wurde Eidotter bei hohen und tiefen Konservierungstemperaturen sowohl im Natriumzitrat-, als auch im Glyzin-, Glukose- und Milchverdünner untersucht. Die prozentualen Eidotteranteile lagen in diesen Verdünnern zwischen 5 und 30 % (FOLGE, 1956; WETTKE u. HUHN, 1962; SPREMBERG, 1963; HEIDRICH u. Mitarb., 1964; ROHLOFF, 1964; SMIDT, 1964 u.a.).

6. Die Spermiensedimentation

In den Verdünnungsmedien mit niedriger Viskosität waren bereits nach kurzer Konservierungszeit deutliche Bodensätze zu beobachten, in denen eine hohe Spermienkonzentration vorlag. Die große Spermiendichte in den Bodensätzen führte zwangsläufig zu einer Kumulation der Endprodukte des Spermienstoffwechsels (EIBL u. Mitarb., 1959; WETTKE u. Mitarb., 1962). In der Kohlensäurekonservierung des Bullenspermas konnte beobachtet werden, daß die Überlebensrate der Spermien abnahm, sobald sich in der Samenverdünnung wesentliches Sediment absetzte (EIBL u. Mitarb., 1959). Schüttelte man den sedimentierenden Samen mehrmals täglich auf und verteilte so den Inhalt wieder gleichmäßig, blieb

eine gute Samenqualität länger erhalten als in nicht aufgeschüttelten Kontrollproben (EIBL u. Mitarb., 1960).

EIBL und Mitarbeiter (1960) untersuchten Gelatine als viskositätssteigernden und sedimentationshemmenden Faktor in einem für die Kohlensäurekonservierung von Bullensperma bestimmten Verdünner. Der optimale Gelatinezusatz lag pro 1000 ml Verdünner zwischen 5 und 7,5 g, wenn die Lösung 10 Minuten lang auf 95°C erhitzt worden war. Mit diesem Verdünner ließ sich die Sedimentation über mehrere Tage vollständig unterbinden. Kontrollproben ohne Gelatinezusätze, die täglich zweimal geschüttelt wurden, zeigten sich in der Erhaltung der Bewegungsintensität der Spermien dem gelatinehaltigen Verdünner deutlich überlegen (EIBL u. Mitarb., 1960). Durch Gefrierbehandlung von Eidotterverdünnern oder reinem Eidotter ließ sich im Verlaufe weiterer Versuche ein idealer Viskositätsgrad des Samenverdünners erreichen. Als ideal wurde im Verdünner ein Viskositätsgrad von 20 - 25 cP angesehen, da hierbei die Sedimentation für mehrere Tage unterbunden werden konnte und eine einwandfreie spermatologische Beurteilung des Samens möglich war.

Bei Versuchen zur Eberspermakonservierung in CO_2-gesättigten Verdünnern zeigten Samenproben, in denen die Spermiensedimentierung durch ständiges langsames Rotieren der Ampullen während der gesamten Konservierungszeit aufgehoben wurde, nach 144 Stunden um 25 % schlechtere Ergebnisse der Spermienbeweglichkeit (ROHLOFF, 1964).

7. Stoffwechselhemmer in der Spermakonservierung

Im Nebenhoden befinden sich die Spermien in einem Zustand der Anabiose, die sie für eine längere Zeit lebensfähig erhält. Auf dem Wege, diesen Zustand auch in vitro zu ermöglichen, sind in der Spermakonservierung vielfach Stoffe untersucht worden, die eine reversible Hemmung des Spermastoffwechsels verursachen. In diesem Zusammenhang sind

neben der Inaktivierung durch CO_2 verschiedentlich Pharmaka aus der Gruppe der Tranquilizer in ihrer Wirkung auf die Spermien untersucht worden. So berichteten KOPERA und ARMITAGE (1954) sowie HIMWICH (1957), daß Tranquilizer den Zellstoffwechsel herabsetzen und folgerten daraus, daß diese Stoffe auch einen hemmenden Einfluß auf den Spermienstoffwechsel in vitro haben und zu einer Verbesserung der Überlebensrate der Spermien bei der Konservierung führen könnten. LUTWAK-MANN und MANN (1954) beobachteten, daß Chlorpromazin die Beweglichkeit und den Stoffwechsel von Schafbockspermien aufhebt (zit. nach MANN, 1958). NISHIKAWA konnte durch Chlorpromazin in einer Konzentration von 200 mg % die Konservierungsergebnisse von Bullenejakulaten verbessern (zit. nach BONADONNA, 1961).

FOOTE und GRAY (1960) untersuchten den Einfluß von Promazinhydrochlorid und Chlorpromazinhydrochlorid auf die Konservierungsergebnisse von Bullenejakulaten in dem CU-16-Verdünner mit 20 % Eidotterzusatz.
Die Zusätze der Tranquilizersubstanzen betrugen 2; 10; 20 und 200 mg %. Keiner dieser Zusätze vermochte die Überlebensrate der Bullenspermien im Vergleich zu dem Kontrollverdünner ohne Tranquilizer zu steigern. Die Konzentration von 200 mg Promazin- beziehungsweise Chlorpromazinhydrochlorid in 100 ml Verdünner erwies sich als ausgesprochen spermienschädigend.
Bei Versuchen mit 20 mg Chlorpromazinhydrochlorid in 100 ml erhitzter Magermilch zeigte sich eine erhebliche Verschlechterung der Konservierungsergebnisse.
FOOTE und GRAY (1964) verwendeten einen Zusatz von 200 mg/ml Promazinhydrochlorid zum Sperma von Hunden und erzielten einen schädigenden Effekt. Höhere Konzentrationen wirkten stark spermizid.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methodik

Für die Versuche standen als Samenspender 4 Eber der Rasse des deutschen veredelten Landschweins zur Verfügung. Die Samenentnahme wurde zweimal wöchentlich im Freien an einer in einem überdachten Deckstand fixierten Sau als Sprungpartner durchgeführt.
Bei der fraktionierten Samengewinnung wurde von der Fixierung eines Auffanggefäßes an der Ausgangsöffnung der künstlichen Vagina abgesehen, so daß das Sperma durch das offene Ende des Innenschlauches abfließen konnte. Es wurde zur Samenentnahme eine modifizierte künstliche Rindervagina nach WETTKE und HUHN (1962) verwendet. Durch den freiendenden Innenschlauch der Vagina konnte das Sekret der Vorphase abfließen. Die spermareiche 1. Hauptphase wurde in einem vorgewärmten und mit Zellstoffwatte von außen isolierten Erlenmeyerkolben aufgefangen. Auch das Sekret der 2. Hauptphase, das zur Konservierung keine Verwendung fand, wurde zur Mengenbestimmung des Gesamtejakulates gesammelt.

Unmittelbar nach der Samenentnahme wurde das Ejakulat der spermareichen 1. Hauptphase durch sterile Gaze filtriert und in ein Wasserbad von 22°C gebracht. Das Sperma verträgt diese schnelle Abkühlung ohne Schädigung (WETTKE u. HUHN, 1962). Die Spermauntersuchung umfaßte neben einer grobsinnlichen Prüfung die Bestimmungen der Dichte nach dem Verfahren von KARRAS, des pH-Wertes mittels eines elektrischen pH-Meters (KNICK) und die Beurteilung der Massenbewegung des unverdünnten Spermas im Tropfpräparat bei 120-facher mikroskopischer Vergrößerung. Die Beurteilung der Vorwärtsbewegung der Spermien erfolgte nach Verdünnung der 1. Hauptphase durch Schätzung des prozentualen Anteils intensiv vorwärtsbeweglicher Spermien. Für die spermatologischen Untersuchungen in dieser Arbeit stand ein Phasen-

kontrastmikroskop zur Verfügung, das beheizbar und durch einen Plexiglaskasten isoliert war. Die Untersuchungen wurden bei 400-facher Vergrößerung und bei einer Temperatur von + 39°C durchgeführt.
Für die Samenkonservierung gelangten nur solche Ejakulate zur Verwendung, in denen nach ihrer Verdünnung mindestens 85 % der Spermien in intensiver Vorwärtsbewegung beobachtet werden konnten.
Nach Abkühlung des Spermas auf + 22°C wurde es im Verhältnis von 1 : 6 mit dem zur Konservierung vorbereiteten, frischen, ebenfalls auf + 22°C temperierten Verdünner versetzt und dann in ein Wasserbad von 12°C gebracht.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Versuche mit den folgenden Verdünnern durchgeführt:

Verdünner I
Magermilchverdünner nach WETTKE und HUHN (1962)

10 g "Molico" (Magermilchtrockenpulver der Fa. NESTLE AG)
5 ccm Eidotter
0,1 g Dihydrostreptomycinsulfat
100 000 I.E. Penicillin - G - Natrium
ad 100 ml Aqua dest.

Verdünner II
Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner nach ROTHE (1960)

1,0 g Na-Zitrat
0,5 g Glycin
0,3 g Sulfanilamid
30 ml Eidotter
ad 100 ml Aqua dest.

Für die Zubereitung des Magermilchverdünners wurde das Magermilchtrockenpulver "Molico" in kaltem Aqua destiliata gelöst und dann für 10 Minuten auf 95°C erhitzt. Nach Abkühlen der resuspendierten Milch auf + 20°C wurden

Penicillin - G - Natrium und Dihydrostreptomycinsulfat in den angegebenen Mengen zugesetzt. Für den Eidotterzusatz gelangten stets frische Eier zur Verwendung. Die Dotterkugeln wurden sorgfältig von dem Eiklar getrennt und danach über steriles Filterpapier gerollt um auch Restbestandteile von Eiklar von der Dotterkugel zu entfernen. Dann wurde die Dotterhaut mit einem scharfen Glasstab eingeritzt, der ausfließende Eidotter in einem Meßzylinder aufgefangen und in entsprechenden Mengen zu den Verdünnern gegeben.

Für den Natriumzitrat-Eidotterverdünner wurde das Sulfanilamid in kochendem Aqua destillata gelöst. Der abgekühlten Lösung wurden das Na-Zitrat und Glycin zugegeben und gelöst. Anschließend wurde in beschriebener Weise der Eidotter gewonnen und zugegeben.

In diesen Verdünnern wurde zunächst über einen Zeitraum von 96 Stunden die Sedimentation der Spermien beobachtet. Diese Untersuchungen wurden mit jedem Verdünner an 5 Ejakulaten in folgender Weise durchgeführt.

Das 1 : 6 verdünnte Sperma wurde in etwa 80 ml fassende Reagenzgläser gefüllt. Die Füllhöhe wurde auf 10 cm eingestellt. Die Gläser wurden mit einem in der Mitte durchbohrten Stopfen verschlossen und in ein Wasserbad von 12°C gebracht. Der Ablauf der Spermiensedimentation wurde durch Dichtebestimmungen von Proben ermittelt, die in 5 verschiedenen Höhenebenen der Flüssigkeitssäule mit Kapillarpipetten entnommen wurden. Die Probenentnahmen zur Dichtebestimmung erfolgten 12, 24, 48, 72 und 96 Stunden nach Versuchsbeginn mit den bereits erwähnten langausgezogenen Kapillarpipetten am Boden des Reagenzglases sowie in 2, 4, 6 und 8 cm Höhe.

Die Feststellung der Spermiendichte der entnommenen Proben erfolgte durch Auszählung in der Blutkörperchenzählkammer nach BÜRKER-TÜRK. Die vor dem Beschicken der Kammer erforderlichen variablen Verdünnungen lagen zwischen 1:10 und 1:200 je nach der zu erwartenden Spermienzahl und wurden

mit 2 %iger Kochsalzlösung hergestellt. Zur Auszählung gelangten jeweils 80 kleine Quadrate.

In weiteren Versuchen wurde der Verlauf der Spermiensedimentation bei verschieden hohen Gelatinezusätzen zu den Verdünnern in der vorstehend beschriebenen Weise beobachtet.

Drei Gelatinekonzentrationen - 175 mg, 350 und 525 mg pro 100 ml Verdünner - wurden in beiden Verdünnern untersucht. Für jeden Versuchsansatz standen 3 Ejakulate zur Verfügung. Die ausgewogenen Gelatinemengen wurden in einer kleinen Menge Aqua destillata kurze Zeit zum Quellen aufgestellt und dann aufgekocht. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung zu den anderen Verdünnerbestandteilen gegeben und durchmischt.
Zur Ermittlung der Viskositätsgrade der einzelnen Verdünner wurden mit einem HÖPPLER-Viskosimeter bei einer durch einen Thermostaten regulierten Temperatur von + 12°C Messungen sowohl an den beiden Grundverdünnern als auch an den mit verschieden großen Gelatinezusätzen versehenen Grundverdünnern durchgeführt und die Viskositätsgrade der Verdünner in Centipoise (cP) ausgedrückt. Die spezifischen Gewichte der Verdünner wurden mit einem Urinprober nach Dr. VOGEL ermittelt.

Für die Untersuchungen des Einflusses der Gelatinezusätze auf die Konservierungsergebnisse von Ebersperma wurde nur mit Gelatinekonzentrationen von 350 und 525 mg pro 100 ml Verdünner gearbeitet. Für jedes Ejakulat wurde eine Vergleichsverdünnung ohne Gelatinezusatz angesetzt und den zu untersuchenden Spermaverdünnungen mit gelatinehaltigen Verdünnern in ihrer Konservierungsfähigkeit für Ebersamen gegenübergestellt. Untersucht wurde die intensive Vorwärtsbewegung der Spermien zu Beginn eines jeden Versuchsansatzes sowie nach 24, 48, 72, 96 und 120 Stunden. Zur Untersuchung wurden aus der Samenverdünnung Proben in Samenportionsgläschen, wie sie in der Rinderbesamung üblich

sind, abgefüllt. Zur Reaktivierung wurden diese für 30 Minuten in einen Brutschrank mit einer Temperatur von + 39°C gebracht und mit dem Phasenkontrastmikroskop auf intensive Vorwärtsbewegung der Spermien untersucht.

Da sich die Untersuchungen lediglich auf in vitro-Versuche mit der Feststellung der intensiven Vorwärtsbewegung der Spermien in dem Konservierungsmedium als Beurteilungsmaß stützen konnten, war eine möglichst genaue Feststellung der Beweglichkeitsprozentsätze der Spermien notwendig. Abgesehen von der Schwierigkeit, die sich bei der visuellen Schätzung der Spermienbeweglichkeit ohnehin ergibt, war es in dem eidotter-angereicherten Na-Zitratverdünnern wegen der geringen optischen Klarheit der Samenverdünnung außerordentlich schwer, eindeutige Werte zu ermitteln. Durch Zentrifugieren dieses Verdünners wurde erreicht, daß das Verdünnungsmedium frei von größeren Eidotterbestandteilen und somit optisch geklärt wurde, was bessere Voraussetzungen für die mikroskopische Untersuchung der mit diesen Verdünnern versetzten Eberejakulate bot.
Bei der Zubereitung des optisch klaren Eidotter-Zitrat-Verdünners wurde folgendermaßen verfahren:
Der am Vortage hergestellte und im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrte Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner nach ROTHE (1960) wurde in 10 ml fassende Gläser abgefüllt und 20 Minuten bei 5000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Danach wurde der klare Überstand vorsichtig abpipettiert und als Verdünner verwendet.

Für Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Tranquilizer-Konzentrationen bei der Eberspermakonservierung kamen folgende Präparate zur Anwendung:

1. Promazin (Verophen BAYER)
2. Chlorpromazin (Megaphen BAYER)
3. Prothipendyl - HCL (Dominal BOEHRINGER)

Die Zusätze von Reinsubstanz dieser Pharmaka betrugen in allen Versuchen 0, 5, 10 und 50 mg pro 100 ml Verdünner. Die Substanzen wurden in wenig Aqua destillata gelöst und dem fertigen Verdünner zugesetzt.

Konservierungsversuche mit 44 Eberejakulaten wurden in folgender Reihenfolge durchgeführt:
In dem Magermilchverdünner nach WETTKE und HUHN (1962) wurde mit 11 Ejakulaten der Einfluß von Promazin und Chlorpromazin auf die Konservierung von Ebersperma geprüft. Mit weiteren 11 Ejakulaten wurden die gleichen Versuche im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner durchgeführt.
Die Wirkung des Prothipendyl-HCL wurde an 11 Ejakulaten im Magermilchverdünner und an weiteren 11 Ejakulaten im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner untersucht.
Diese Untersuchungen liefen ebenfalls, wie oben beschrieben, über 120 Stunden, und aus jedem Versuchsansatz kamen täglich Proben zur Auswertung. Die Reaktivierung vor der mikroskopischen Beurteilung erfolgte wie bereits oben beschrieben.

2. Versuchsergebnisse

a) Spermatologische Untersuchungsergebnisse

Die Gesamtmengen der 73 Eberejakulate, die für die Untersuchungen dieser Arbeit gewonnen wurden, betrugen im Durchschnitt 248 ml und lagen mit ihren Extremwerten zwischen 140 und 440 ml. Die Mengen der spermareichen 1. Hauptphasen betrugen im Mittel 66,52 ml (Extremwerte: 83 und 41 ml) und ihre Spermiendichten lagen zwischen 0,612 und 1,675 Millionen/mm^3 mit einem Durchschnitt von 1,0743 Millionen/mm^3.
Der pH-Wert der 1. Hauptphasen betrug im Mittel 7,22 und seine Extremwerte wurden mit 6,98 und 7,45 gemessen.
Nach der Verdünnung der Ejakulate waren im Durchschnitt 90,20 Prozent der Spermien in intensiver Vorwärtsbewegung zu beobachten (Extremwerte 85 und 95 %).

In der Tabelle 1 sind diese Untersuchungsergebnisse nochmals aufgeführt.

	Ø-Werte	Extremwerte
Menge des Gesamtejakulats (ml)	248	(140-4[illegible])
Menge der spermareichen Phasen (ml)	66,52	(41-83)
pH-Werte	7,22	(6,98-7,45)
Dichte der zur Konservierung gelangten Ejakulatsanteile (Mill/mm³)	1,074	(0,612-1,675)
V (in %)	90,20	(85-95)

Tabelle 1

In den zur Konservierung beziehungsweise zur Verdünnung zwecks Untersuchung auf Spermiensedimentation gelangten Anteilen der spermareichen Ejakulatsfraktionen, besonders aber in den dichtesten Ejakulatsphasen konnte eine fischzugartige Massenbewegung beobachtet werden, die in Anlehnung an die Bullenejakulatsbeurteilung mit M ++ hätte bewertet werden können.

b) pH-Werte der Verdünner und deren Viskosität

Der Magermilchverdünner nach WETTKE und HUHN (1962) - Verdünner I - hatte einen pH-Wert von 6,61, der sich durch den Zusatz von Gelatine nur ganz geringfügig auf 6,59 änderte.

Für den Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner nach ROTHE (1960) - Verdünner II - wurde ein pH-Wert von 6,90 gemessen. Nach dem Gelatinezusatz lag der pH-Wert dieses Verdünners bei 6,84. Diese Werte stellen Durchschnittsergebnisse dar, die aus pH-Messungen sämtlicher Verdünnerzubereitungen in dieser Arbeit errechnet wurden.

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Viskositätsbestimmungen in den beiden Verdünnern ohne und mit den verschieden großen Gelatinezusätzen aufgeführt. Diesen

Viskositätsbestimmungen lagen in jedem Fall mindestens 5 Einzelmessungen zugrunde, bei denen die Fallzeiten der Meßkugel im HOEPPLER-Viskosimeter nicht mehr als 0,3 sek auseinander lagen.

Gelatinezusätze in mg pro 100 ml Verdünner	Viskositätsgrad in Centipoise (cP)	
	Magermilchverdünner (Verdünner I)	Na-Zitrat-Eidotter Verdünner (Verdünner II)
0	2,715	5,329
175	3,596	8,187
350	7,814	12,495
525	17,389	26,466

Tabelle 2

c) Die Spermiensedimentation im Magermilch- und Na-Zitrat-Eidotter-Verdünner ohne Gelatinezusätze

1. Magermilchverdünner (Verdünner I)

Nach Verdünnung der Ejakulate im Magermilchverdünner sedimentierten die Spermien so schnell, daß bereits 12 Stunden nach Versuchsbeginn am Boden des Konservierungsgefäßes eine Spermiendichte beobachtet werden konnte, die, verglichen mit der Ausgangsdichte, etwa auf das Vierfache erhöht war. Die größte Dichte, die bei einem Ejakulat zu diesem Zeitpunkt am Boden des Samenverdünnungsglases ermittelt werden konnte, betrug 604000 Spermien/mm^3 gegenüber einer Anfangsdichte von 131000 Spermien/mm^3.

In der Tabelle 3 sind die Spermiendichten aus den Untersuchungen von 5 Ejakulaten zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns als auch nach 12, 24, 48, 72 und 96 Stunden in den entsprechenden Meßhöhen dargestellt. Diese Zahlen stellen Mittelwerte aus 5 Ejakulaten dar, die in Klammern gesetzten Zahlen stellen Extremwerte der Einzelmessungen dar. Die Zahlenangabe erfolgt in Tausend.

Meßhöhe (cm)	0	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		109,2 (93-119)	48,4 (17-83)	5,6 (4-9)	2 (1-3)	0,64 (0,2-1)
6		122 (105-164)	95,2 (55-122)	15,4 (9-24)	5,8 (3-8)	2,4 (1,5-3,5)
4	137 (166-113)	124,8 (106-147)	114,2 (74-154)	66,2 (18-144)	9,4 (6-11)	4,4 (3-7)
2		133,8 (96-166)	171,8 (86-245)	210 (100-360)	217,4 (14-444)	22,6 (5-80)
0		508 (410-604)	691 (470-800)	1190 (850-1540)	1314 (1100-1580)	1426 (1240-1620)

Tabelle 3

Um den prozentualen Anstieg oder Abfall der Spermiendichten in den verschiedenen Meßhöhen darstellen zu können, wurden die Anfangsdichten in den Samenverdünnungen der Ejakulate gleich 100 gesetzt und die in der 96-stündigen Untersuchungszeit ermittelten Spermiendichten in Prozentzahlen zu den Anfangswerten errechnet. Die Tabelle 4 gibt eine Darstellung der Durchschnittswerte, die sich aus den Prozentsätzen der 5 Einzelejakulate ergibt.

Meßhöhe (cm)	0	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8	100	80,7	35,1	4,1	1,5	0,5
6	100	93,3	70,2	11,3	4,3	1,8
4	100	98,0	85,7	49,3	7,2	3,3
2	100	102,0	133,2	148,5	172,6	16,6
0	100	380,1	511,7	900,8	998,2	1087,4

Tabelle 4

Die schnelle Zunahme der Spermiendichte in der Meßhöhe 0, also auf dem Boden der Samenverdünnung, ist entsprechend der Werte von Tabelle 4 in der Abbildung 1 graphisch dargestellt.

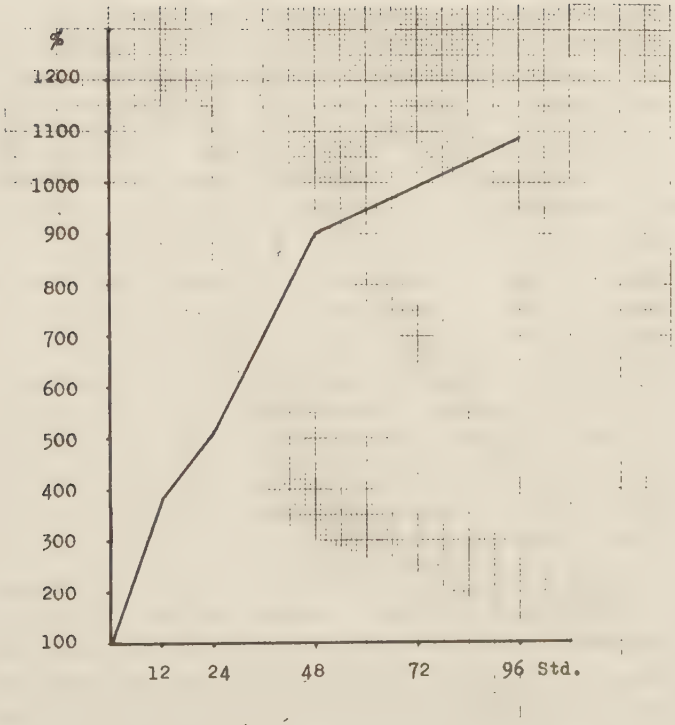
%
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
12
24
48
72
96 Std.

Abbildung 1

2. Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II)

Im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner verlief die Spermiensedimentierung infolge der durch den Eidotteranteil wesentlich höheren Verdünnerviskosität weniger stürmisch als im Magermilchverdünner. Die Spermiendichte war 12 Stunden nach Versuchsbeginn am Boden der Samenverdünnung nur etwa auf das Zweifache der Ausgangsdichte angestiegen und erreichte nach 96 Stunden nur das Dreifache der ursprünglichen Spermakonzentration. Neben der Spermasedimentation sanken die in der Samenverdünnung suspendierten Eidotterkügelchen mit zunehmender Versuchsdauer immer deutlicher auf den Boden des Samengefäßes ab. Dadurch bildete sich an der Oberfläche der Samenverdünnung eine transparente eidotterfreie Flüssigkeitszone aus, die bis zum Ende der Versuchszeit (96 Stunden) etwa die Hälfte des gesamten Glasinhaltes ausmachte. Die Spermiendichte war in dieser eidotterfreien Zone sehr stark gesunken und betrug nach 96 Stunden in den oberen 4 - 5 cm nur noch bis zu 300 Spermien/mm³. Im eidotterhaltigen Verdünnersediment war eine Erhöhung der Spermienkonzentration zu beobachten, die sich jedoch keineswegs mit den Meßwerten im Magermilchverdünner vergleichen lassen konnte. Während im Magermilchverdünner nach 96 Stunden die Spermiendichte am Boden des Samengefäßes Werte von mehr als einer Million Spermien/mm³ erreichte und in den Meßhöhen 2 und 4 cm die Dichten 16000/mm³ nicht überstiegen, waren im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner in Meßhöhe 4 cm mit 136800 Spermien/mm³ noch Spermienkonzentrationen anzutreffen, die über der ursprünglichen Ausgangsdichte lagen. Am Boden dieser Verdünnung war die Spermiendichte nach 96 Stunden nur knapp auf das Dreifache der Ausgangskonzentration gestiegen (360000/mm³).

Entsprechend der Tabelle 3 sind in der Tabelle 5 die Mittelwerte aus den Spermiendichten von 5 Ejakulaten mit ihren Extremwerten in Klammern über die Versuchszeit von 96 Stunden aufgezeichnet.

Meßhöhe (cm)	0	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		99 (80-140)	89,6 (60-136)	5,7 (0,5-13,5)	0,3 (0,1-1,0)	0,18 (0,1-0,5)
6		145,4 (76-210)	133,4 (75-170)	122 (6,5-185)	1,72 (0,1-5)	0,26 (0,1-0,5)
4	123,6 (95-160)	131,4 (80-180)	107,4 (66-142)	123,8 (105-145)	151 (80-250)	135,8 (0,1-275)
2		127,4 (86-160)	119 (60-165)	157 (110-200)	172 (115-270)	241,2 (140-380)
0		228 (180-345)	292 (240-380)	278 (200-390)	316 (240-400)	360 (270-410)

Tabelle 5

Der prozentuale Anstieg und Abfall der Spermiendichten in den verschiedenen Meßhöhen über die 96-stündige Untersuchungszeit ist in der Tabelle 6 dargestellt. Hierbei handelt es sich wie bei Tabelle 4 um Mittelwerte die aus den Messungen an 5 Ejakulaten entstanden sind, deren Anfangsverdünnungen gleich 100 gesetzt worden sind.

Meßhöhe (cm)	0	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8	100	80,9	71,5	4,1	0,2	0,1
6	100	116,6	107,9	101,9	1,2	0,2
4	100	106,2	87,2	103,1	127,2	102,7
2	100	103,7	95,6	129,9	139,3	200,2
0	100	195,5	254,3	234,5	265,7	299,3

Tabelle 6

Die prozentuale Zunahme der Spermienkonzentration am Boden des Konservierungsglases (Meßhöhe 0) ist entsprechend den Werten der Tabelle 6 über die Versuchszeit von 96 Stunden in der Abbildung 2 aufgezeigt.

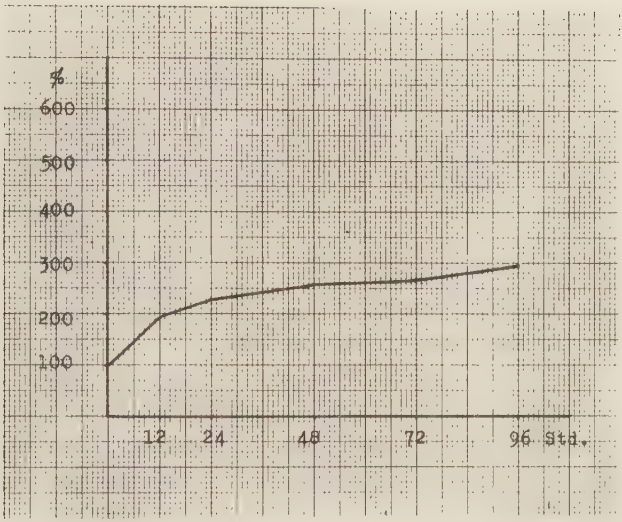

Abbildung 2

3. Besprechung der Sedimentierungsergebnisse

Die Sedimentierungsgeschwindigkeiten der Spermien in den Verdünnern 1 und 2 waren, wie dies aufgrund der sehr verschiedenen Verdünnerviskositäten zu erwarten war, sehr unterschiedlich. Während sich im Magermilchverdünner die Spermienkonzentration in der Meßhöhe 0, also auf dem Boden des Spermagefäßes, bereits nach 12 Stunden auf die vierfache Spermiendichte erhöht hatte, nach 2 Untersuchungstagen auf das Neunfache und nach Ende der Versuche der 96-Stunden-Wert sogar eine Zunahme der Spermiendichte auf das Elffache der Ausgangskonzentration angestiegen war, blieben die Dichtenzunahmen in der gleichen Meßhöhe im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner weit hinter den Ergebnissen des Verdünners I zurück. Die Spermienkonzentration nach 12 Stunden war nur auf das Doppelte des Ausgangswertes angestiegen. Nach weiterem sehr langsamen Ansteigen der Dichten war nach 96 Stunden das Dreifache der Spermienkonzentration vom Versuchsbeginn erreicht.
In der Meßhöhe 8 cm verringerte sich im Magermilchverdünner innerhalb von 24 Stunden die Spermiendichte um zwei Drittel und nach 48 Stunden auf ein Fünfundzwanzigstel der Ausgangsdichte, im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner war nach 24 Stunden in Meßhöhe 8 nur eine Abnahme der Spermiendichte um ein Drittel der Ausgangsdichte beobachtet worden.

Durch die Dottersedimentierung war eine eidotterfreie Zone in der oberen Hälfte der Samenverdünnung entstanden, die nahezu frei von Spermien war. Die maximale Spermiendichte betrug in dieser Zone 260 Spermien/mm^3. Im dotterhaltigen Sediment dieser Samenverdünnung betrug bei Versuchsende in der Meßhöhe von 4 cm die Spermienkonzentration 135800/mm^3 und war somit dichter als die Samenverdünnung bei Versuchsbeginn (102,7 % der Ausgangsdichte). Die Dichte am Boden der eidotterhaltigen Samenverdünnung hatte nach 96 Stunden ein Maximum von 299 % an Spermien aufzuweisen gemessen an der Ausgangsdichte dieser Samenverdünnung.

d) Die Spermiensedimentation im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner unter Zusatz von Gelatine

Dem raschen und gleichmäßigen Sedimentieren der Spermien im Magermilchverdünner mit der starken Kumulation der Samenzellen am Boden des Konservierungsgefäßes und dem durch den Eidotteranteil charakterisierten Verlauf der Sedimentation der Spermien im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner sollten hier in den gleichen Verdünnern die Ergebnisse bei zunehmender Verdünnerviskosität durch steigende Gelatinezusätze gegenübergestellt werden. Für diese Untersuchungen kamen in jedem Verdünner 3 Ejakulate zur Konservierung.

1. Magermilchverdünner (Verdünner I)

Im Magermilchverdünner mit einem Zusatz von 175 mg Gelatine auf 100 ml Verdünner war nach 24 Stunden am Boden des Konservierungsgefäßes eine durchschnittliche Erhöhung der Spermiendichte auf das Dreifache gegenüber der Ausgangskonzentration zu beobachten. Sie erreichte nach 96 Stunden fast das Sechsfache der Anfangswerte.
Bei einem Zusatz von 350 mg Gelatine war eine Vergrößerung der Spermienkonzentration auf das Doppelte der Ausgangsdichte am Boden des Glases bereits nach 24 Stunden zu erkennen, eine nennenswerte Änderung war in dieser Meßhöhe im weiteren Verlauf der Untersuchung kaum feststellbar.
In der Meßhöhe 0, also an der Oberfläche der Samenverdünnung verringerte sich die Dichte während der gesamten Beobachtungszeit langsam und kontinuierlich und erreichte nach 96 Stunden Werte, die noch ca. 50 % der Ausgangsdichte betrugen.
Bei einem Zusatz von 525 mg Gelatine pro 100 ml Verdünner war weder in den oberen Schichten der Samenverdünnung eine deutliche Verringerung noch in Bodennähe des Konservierungsglases eine Zunahme der Spermien-Konzentration verglichen mit der Ausgangsdichte festzustellen.

In den Tabellen 7, 8 und 9 sind die durchschnittlichen Spermiendichten aus jeweils 3 Ejakulaten über die Untersuchungszeit von 96 Stunden bei täglicher Auswertung getrennt nach den verschiedenen Gelatinezusätzen aufgeführt. Die in Klammern gesetzten Zahlen stellen Extremwerte dar, die sich aus den Messungen der einzelnen Ejakulate ergaben. Die Zahlenangabe erfolgt in Tausend.

175 mg Gelatine/100 ml Verdünner

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		101,6 (45-135)	19,3 (10-33)	10,3 (2-26)	3,5 (1-7,5)
6		121,6 (55-160)	68,3 (10-130)	18 (6-38)	9,8 (2-19)
4	200 (150-250)	146,6 (95-190)	158,3 (105-190)	76,6 (10-185)	80 (5-220)
2		263,6 (200-320	263,6 (185-350)	293,3 (270-330)	178,3 (35-250)
0		580 (460-670)	950 860-1010,	1040,6 (890-1120)	1113,6 (1000-1200)

Tabelle 7

350 mg Gelatine/100 ml Verdünner

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		136,3 (110-150)	111,6 (85-140)	101,6 (79-136)	80,2 (51-130)
6		156,6 (155-160)	146,6 (145-150)	141,6 (140-165)	148,3 (140-155)
4	200 (150-250)	165 (150-170)	166,6 (155-185)	165 (150-185)	153,3 (120-170)
2		206,6 (180-240)	215 (145-290)	215 (145-275)	163,3 (140-270)
0		400 (200-580)	450 (300-560)	453,3 (270-580)	476,6 (270-630)

Tabelle 8

525 mg Gelatine/100 ml Verdünner

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		170 (150-210)	155 (140-175)	146,6 (125-175)	135 (120-165)
6		223,3 (165-260)	175 (135-240)	176,6 (135-230)	175 (155-205)
4	200 (150-250)	180 (145-220)	175 (145-210)	183,3 (150-220)	178,3 (140-225)
2		183,3 (155-230)	180 (150-210)	200 (165-250)	190 (150-240)
0		221,6 (165-270)	233,3 (170-280)	236,3 (170-280)	286,6 (180-300)

Tabelle 9

Der prozentuale Anstieg und Abfall der Spermiendichten gemessen an den Ausgangskonzentrationen ist in den verschiedenen Meßhöhen getrennt nach den unterschiedlichen Gelatinezusätzen in den Tabellen 10, 11 und 12 dargestellt. Dabei sind die mittleren Ausgangsdichten der 3 Ejakulate gleich 100 gesetzt worden und die in der 96-stündigen Untersuchungszeit ermittelten durchschnittlichen Spermienkonzentrationen in Prozentzahlen zu den Ausgangsdichten gesetzt worden.

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.	
8		56,3	11,2	7,5	2,1	
6		67,3	37,4	9,6	5,9	
4	100	73,3	79,0	39,9	52,1	175 mg Gelatine
2		133,8	130,3	152,4	101,9	
0		293,2	495,8	545,5	572,2	

Tabelle 10

8		73,0	60,8	55,8	44,0	
6		81,6	76,6	79,5	78,1	
4	100	86,9	85,8	84,7	77,7	350 mg Gelatine
2		96,7	108,6	108,1	97,0	
0		191,8	223,0	222,3	230,1	

Tabelle 11

8		86,3	79,4	75,3	68,7	
6		112,2	87,0	88,2	89,3	
4	100	90,7	88,6	92,7	89,4	525 mg Gelatine
2		92,6	91,3	100,80	95,3	
0		112,3	117,8	119,1	127,4	

Tabelle 12

Die prozentualen Zunahmen der Spermiendichten am Boden der mit den 3 Gelatinezusätzen versehenen Samenverdünnungen sind entsprechend den Werten aus den Tabellen 10, 11 und 12 in der Abbildung 3 graphisch dargestellt.

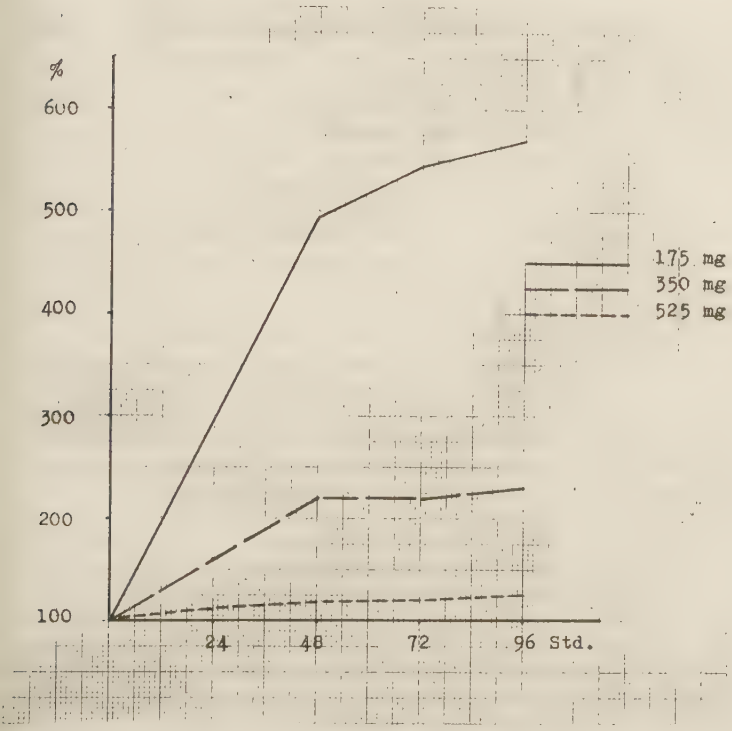

Abbildung 3

2. Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II)

Im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner bewirkten die Gelatinezusätze in steigender Konzentration nicht nur eine zunehmende Verminderung der Spermiensedimentation, sondern auch in steigendem Maße eine fast vollständige Verhinderung der Dottersedimentation, wie sie im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner ohne Gelatinezusätze beobachtet werden konnte.
Mit keinem der 3 Gelatinezusätze wurde in diesem Verdünner nach 96 Stunden Versuchszeit am Boden der Konservierungsgläser eine Spermiendichte erreicht, die das Doppelte der Ausgangskonzentration überschritt. Während bei einem Zusatz von 175 mg Gelatine/100 ml Verdünner nach 96 Stunden noch 170 % der Ausgangsdichte gemessen werden konnte, betrug sie bei 350 mg Gelatinezusatz 134 % und bei 525 mg Gelatinezusatz pro 100 ml Verdünner nur noch 115 %.
In der Meßhöhe 8, also an der Oberfläche der Samenverdünnung konnte bei den 3 Gelatinezusätzen in den ersten 2 Versuchstagen eine gleichmäßige mit zunehmender Verdünnerviskosität jedoch langsamer werdende Spermiensedimentierung beobachtet werden, nach 72 Stunden jedoch war in dieser Höhe nur noch eine sehr geringe Spermiendichte vorhanden, deren Maximum bei dem Zusatz von 525 mg Gelatine lag und dort 7,7 % der Ausgangsdichte betrug.
In den übrigen Meßhöhen waren die Abweichungen der Spermiendichten gemessen an den Ausgangswerten in dem Verdünner mit 175 mg Gelatinezusatz zwar noch deutlich im Vergleich zu den anderen beiden Gelatinekonzentrationen, beim Verdünner mit 525 mg Gelatinezusatz jedoch kaum noch feststellbar.

In den Tabellen 13, 14 und 15 sind entsprechend den Tabellen 7, 8 und 9 die durchschnittlichen Spermiendichten aus den jeweils 3 Ejakulaten über die Versuchszeit von 96 Stunden getrennt nach den verschiedenen Gelatinezusätzen aufgeführt.

1[illegible] mg Gelatine/100 ml Verdünner

Höhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		145 (115-160)	10[illegible],6 (8-150)	4 (3-5)	2,3 (1-5)
6		170 (150-180)	148,3 (115-170)	121,6 (30-170)	124 (7-185)
[illegible]	180 (155-195)	160 (125-185)	143,3 (115-175)	158,3 (150-170)	176,6 (155-205)
2		216,6 (205-230)	271,6 (190-275)	281,6 (225-270)	233,3 (200-260)
0		256,6 (250-270)	288,3 (275-310)	293,3 (290-300)	305 (295-320)

Tabelle 13

350 mg Gelatine/100 ml Verdünner

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		160 (125-180)	140 (115-155)	3,6 (3-4)	2,6 (2-4)
6		166,6 (150-175)	166,6 (130-190)	168,3 (140-190)	153,3 (65-200)
4	180 (155-195)	176,3 (165-185)	166,6 (145-190)	186,3 (130-220)	191,6 (170-210)
2		186,3 (180-190)	168,3 (150-190)	193,3 (155-225)	205 (175-230)
0		200 (170-230)	233,3 (175-310)	231,6 (205-250)	271,6 (215-250)

Tabelle 14

525 mg Gelatine/100 ml Verdünner

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.
8		173,3 (155-185)	168,3 (140-185)	10,6 (6-20)	14,3 (4-35)
6		180 (150-195)	176,6 (165-185)	171,6 (120-200)	181,6 (165-200)
4	180 (155-195)	180 (170-190)	165 (120-190)	176,6 (140-195)	191,6 (175-200)
2		180 (160-190)	185 (170-195)	186,6 (150-210)	188,3 (170-205)
0		178,3 (160-190)	183,3 (165-195)	193,3 (165-210)	206,6 (185-220)

Tabelle 15

Der prozentuale Anstieg und Abfall der Spermien-Konzentrationen über die 96-stündige Versuchszeit wird in den einzelnen Meßhöhen nach Gelatinezusätzen getrennt entsprechend der Tabellen im Verdünner I in den Tabellen 17, 18 und 19 dargestellt. Es handelt sich auch hier um Mittelwerte aus den 3 zur Verdünnung gelangten Ejakulaten.

Meßhöhe (cm)	0	24 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.	
8		78,4	53,7	2,3	1,4	
6		94,9	81,9	64,5	64,7	
4	100	88,4	79,2	89,4	100,4	175 mg Gelatine
2		121,2	130,0	138,4	129,6	
0		144,7	161,4	164,6	170,8	

Tabelle 17

8		88,4	79,3	2,1	1,6	
6		92,9	94,3	93,3	82,4	
4	100	98,7	96,4	102,5	106,7	350 mg Gelatine
2		104,5	94,5	107,0	113,9	
0		111,0	128,4	130,8	134,2	

Tabelle 18

8		96,6	93,3	6,4	7,7	
6		99,8	98,7	94,2	100,9	
4	100	101	90,7	97,6	106,9	525 mg Gelatine
2		100,2	103,2	103,3	105,9	
0		99,4	102,2	107,4	115,2	

Tabelle 19

Die prozentualen Zunahmen der Spermiendichten am Boden der Samengefäße sind von den 3 mit Gelatinezusätzen versehenen Samenverdünnungen entsprechend den Werten der Tabellen 17, 18 und 19 in der Abbildung 4 graphisch dargestellt.

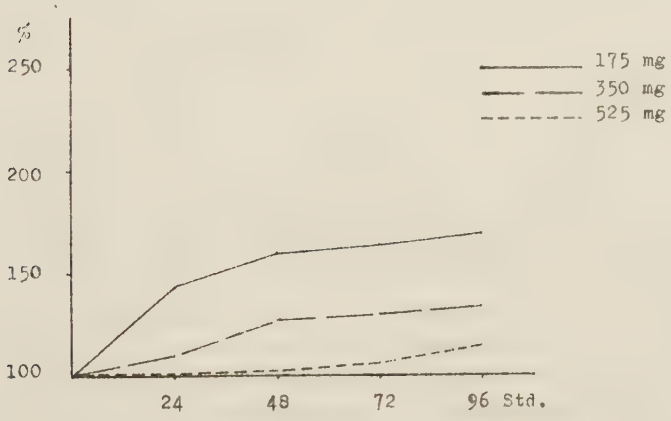

Abbildung 4

3. Besprechung der Sedimentierungsergebnisse

In beiden Verdünnern war mit zunehmenden Gelatinekonzentrationen eine geringer werdende Spermiensedimentierung zu beobachten, als dies bei den gleichen Verdünnern ohne Gelatinezusätze der Fall war. Wie bereits bei der Spermiensedimentierung ohne Gelatinezusätze unter d) 2 festgestellt worden war, so zeigte sich auch in dieser Konservierungsreihe im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Zusätzen von Gelatine neben der Spermiensedimentation ein deutliches Absinken der im Verdünner suspendierten Eidotterkügelchen. Diese Eidottersedimentation war jedoch wegen der wesentlich höheren Verdünnerviskositäten erheblich geringer als in dem gelatinefreien Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner. Nach 120 Stunden war in der Meßhöhe 8 in den Verdünnern mit 175 mg und 350 mg Gelatinezusatz ein Absinken der Spermakonzentration auf ein Hundertstel der Ausgangsdichte festzustellen, in dem Verdünner mit Zusatz von 525 mg % Gelatine war die Spermienkonzentration mit 7 % der Ausgangsdichte größer als in den beiden anderen Verdünnern. In der Meßhöhe 6 war die Spermakonzentration im Verdünner mit dem größten Gelatinezusatz (525 mg %) gegenüber der Ausgangsdichte nicht mehr verändert (100,9 %). Bei der Versuchsreihe mit 350 mg % Gelatine betrug sie noch 82,4 % und in der Versuchsreihe mit 175 mg % Gelatinezusatz waren noch 64,7 % der Spermien, gemessen an der Ausgangsdichte, festzustellen. Am Boden der Samenverdünnungen war nur eine geringe Zunahme der Spermienkonzentrationen zu beobachten, die bei Zusatz von 175 mg % mit 170,8 % am größten war und mit Zunahme der Verdünnerviskosität geringer wurde. Bei einem Zusatz von 350 mg % Gelatine betrug die Dichte 134,2 % und bei 525 mg % 115,2 % zur Ausgangsdichte.

Die Spermiensedimentation nahm im gelatinehaltigen Magermilchverdünner mit zunehmender Viskositätserhöhung deutlich ab. Nach 120-stündiger Versuchszeit war die Spermien-

konzentration am Boden der Samenverdünnung bei einem Gelatinezusatz von 175 mg % auf mehr als das Fünffache der Ausgangsdichte gestiegen (572,2 %), bei 350 mg % Gelatinezusatz waren es nur noch 230,1 % und überstieg bei 525 mg % Gelatinezusatz mit 127,4 % nur geringgradig die Spermiendichte, die zu Versuchsbeginn gemessen worden war.

Im Vergleich zu den Sedimentierungsergebnissen im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner war im Magermilchverdünner in den oberen Meßhöhen (8 und 6) nur ein langsames Sedimentieren zu beobachten. In der Samenverdünnung mit dem kleinsten Gelatinezusatz (175 mg %) war nach 120 Stunden in Meßhöhe 8 nur noch ein Fünfzigstel der ursprünglichen Spermamenge vorhanden und in Meßhöhe 6 ein Zwanzigstel. Dagegen waren bei einem Gelatinezusatz von 350 mg % in diesen Meßhöhen noch 44,0 und 78,1 % sowie mit einem Zusatz von 525 mg % 68,7 und 89,3 % der Ausgangsdichte zu finden.

e) Konservierungsergebnisse im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Zusätzen von 350 und 525 mg % Gelatine

1. Magermilchverdünner (Verdünner I)

In dieser Versuchsreihe gelangten 20 Ejakulate von 4 Ebern zur Konservierung. Aufgrund der in den Sedimentierungsversuchen erzielten Ergebnisse -Abschnitt d- sollte die Konservierungsfähigkeit dieses Verdünners nur mit Gelatinezusätzen von 350 und 525 mg % untersucht werden. Es wurde über einen Zeitraum von 120 Stunden durch tägliche mikroskopische Untersuchungen der Anteil der vorwärtsbeweglichen Spermien in den Samenverdünnungen ermittelt und der Spermienbeweglichkeitsrate in Kontrollverdünnungen ohne Gelatinezusatz gegenübergestellt.

In der Tabelle 20 sind die ermittelten Einzelwerte von

sämtlichen 20 Ejakulaten sowohl mit als auch ohne Gelatinezusätze konserviert aufgeführt.
Die durchschnittlichen Beweglichkeitsprozentzahlen, die sich aus den Einzelwerten der Tabelle 20 ergeben sind in der Tabelle 21 zusammengestellt.
Eine graphische Darstellung der in der Tabelle 21 aufgeführten Durchschnittswerte erfolgt in der Abbildung 5.

Beweglichkeitszahlen in % in [illegible]

mit Gelatinezusätzen in mg %

Lfd. Nr.	Exper.	[illegible] 0	24	48	72	96	120 Stunden	550 0	24	48	72	96	120 Stunden	825 0	24	48	72	96	120 Stunden
1	1	95	80	50	70	20	5	85	80	50	50	15	5	80	80	40	15	15	0
2	2	95	80	80	60	20	5	95	80	75	45	15	5	95	80	75	55	0	0
3	3	90	75	60	65	40	0	90	80	55	30	30	5	90	60	40	20	20	0
4	4	90	80	70	60	10	5	80	70	70	45	10	5	90	70	60	5	0	0
5	[illegible]	90	80	65	60	50	25	90	55	50	40	40	30	90	50	40	55	30	0
6	3	90	80	70	65	50	20	90	80	55	60	40	20	90	55	50	40	30	0
7	4	90	80	80	65	35	5	85	80	80	30	20	0	80	70	70	10	10	5
8	1	80	75	70	70	60	20	80	75	65	65	60	10	80	70	60	60	20	10
9	2	95	95	95	90	85	60	95	95	90	85	60	30	95	90	80	75	60	20
10	3	95	65	65	55	60	0	95	65	65	60	10	10	95	60	40	20	20	0
11	1	90	85	80	80	60	5	90	85	80	80	55	5	90	85	70	65	45	5
12	2	90	85	85	85	65	60	90	85	80	85	50	50	90	85	80	80	50	50
13	3	90	75	75	65	5	1	90	75	70	65	5	1	90	80	70	30	5	5
14	1	85	85	70	70	65	60	85	75	70	70	60	60	85	75	60	60	45	45
15	2	80	80	75	75	70	45	80	75	70	70	65	10	80	75	65	65	60	10
16	3	85	60	60	60	60	1	85	60	60	60	60	1	85	55	55	50	45	1
17	4	85	85	75	75	70	70	85	75	70	70	60	60	85	70	60	55	55	55
18	1	85	80	80	70	70	65	85	80	75	65	40	50	85	70	70	60	50	40
19	2	95	90	90	85	80	75	95	85	80	70	70	70	95	75	70	70	65	65
20	4	95	95	90	85	75	70	95	90	85	80	60	60	95	75	70	65	60	55

Tabelle 20

Beweglichkeitszahlen in % im Magermilch-verdünner
(Durchschnittswerte)

Konservierungszeit	0	24	48	72	96	120
			Stunden			
ohne Gelatine	89,0	80,5	74,3	69,5	52,5	29,4
mit 350 mg %	89,0	76,8	70,3	61,3	45,5	24,4
mit 525 mg %	89,0	70,5	60,7	46,8	24,3	18,3

Tabelle 21

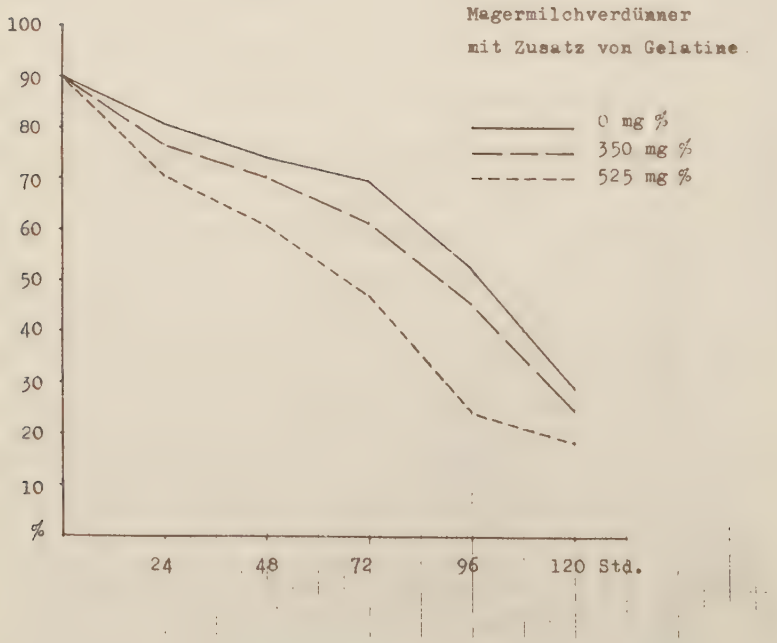

Abbildung 5

2. Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II)

In diesem Verdünner gelangten die gleichen 20 Eberejakulate zur Konservierung wie im Magermilchverdünner, und der Gelatinezusatz erfolgte in den gleichen Größen (350 und 525 mg %).

In der Tabelle 22 sind die ermittelten Einzelwerte von sämtlichen 20 Ejakulaten nach verschiedenem Gelatinezusatz getrennt dargestellt.

Die sich aus diesen Einzelwerten ergebenden durchschnittlichen Beweglichkeitsprozentzahlen sind in der Tabelle 23 aufgeführt.

Eine graphische Darstellung der Durchschnittswerte in Tabelle 23 erfolgt in der Abbildung 6.

Da die Aufrechterhaltung der Spermienvorwärtsbeweglichkeit bei den verschiedenen Konservierungsreihen von Ejakulat zu Ejakulat erhebliche Unterschiede zeigte, sind in der Tabelle 24 die in beiden Verdünnern mit und ohne Gelatinezusätze ermittelten Extremwerte der prozentualen Vorwärtsbewegung zusammengestellt worden.

Beweglichkeitszahlen in % in Natrium-Zitrat-Eiblatten-Verdünner

mit Gelatinezusätzen in mg %

Lfd. Nr.	Eber	0						350						525					
		0	24	48	72	96	120	0	24	48	72	96	120	0	24	48	72	96	120
		Stunden						Stunden						Stunden					
1	1	85	80	70	70	20	5	85	80	65	50	15	5	85	80	60	30	15	5
2	2	95	80	80	60	10	5	95	80	75	55	5	1	95	80	75	55	5	0
3	3	90	75	60	50	40	0	90	70	60	35	30	0	90	60	40	30	30	0
4	4	90	80	70	70	5	0	90	70	70	40	10	0	90	70	60	30	10	0
5	2	90	75	60	60	50	30	90	55	45	40	40	30	90	50	30	30	20	10
6	3	90	80	70	65	50	20	90	75	65	65	45	10	90	65	55	50	30	0
7	4	90	80	80	65	30	10	90	80	80	20	20	5	90	75	75	10	10	5
8	1	80	75	70	70	60	10	80	75	70	70	30	5	80	70	60	60	10	5
9	2	95	95	95	90	70	60	95	95	90	90	70	30	95	95	80	80	60	30
10	3	95	65	65	65	60	20	95	65	65	45	50	30	95	65	40	40	20	0
11	1	90	85	80	70	65	65	90	85	60	60	45	45	90	80	50	50	35	40
12	2	90	90	90	80	80	80	90	85	85	80	70	70	90	85	80	75	70	65
13	3	90	80	80	45	20	0	90	75	65	45	10	5	90	60	45	15	10	0
14	1	85	75	75	75	65	50	85	75	70	70	70	50	85	70	65	60	55	45
15	2	80	75	75	75	65	65	80	80	70	70	65	65	80	70	70	70	50	45
16	3	85	50	40	40	5	1	85	50	45	35	10	1	85	20	10	10	10	1
17	4	85	80	75	75	75	60	85	75	75	75	75	60	85	80	75	70	70	60
18	1	85	75	70	70	70	45	85	75	70	70	70	45	85	65	60	60	55	30
19	2	95	90	90	80	80	50	95	90	90	85	75	50	95	90	90	70	70	50
20	4	95	75	75	65	65	65	95	80	75	60	60	60	95	75	60	50	50	45

Tabelle 22

Beweglichkeitszahlen in % im
Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner
(Durchschnittswerte)

Konservierungszeit	0	24	48	72	96	120
			Stunden			
ohne Gelatine	89,0	78,0	73,5	67.0	49,3	32,1
mit 350 mg %	89,0	75,8	69,5	58,0	43,3	28,4
mit 525 mg %	89,0	70,3	59,0	47,3	33,8	21,8

Tabelle 23

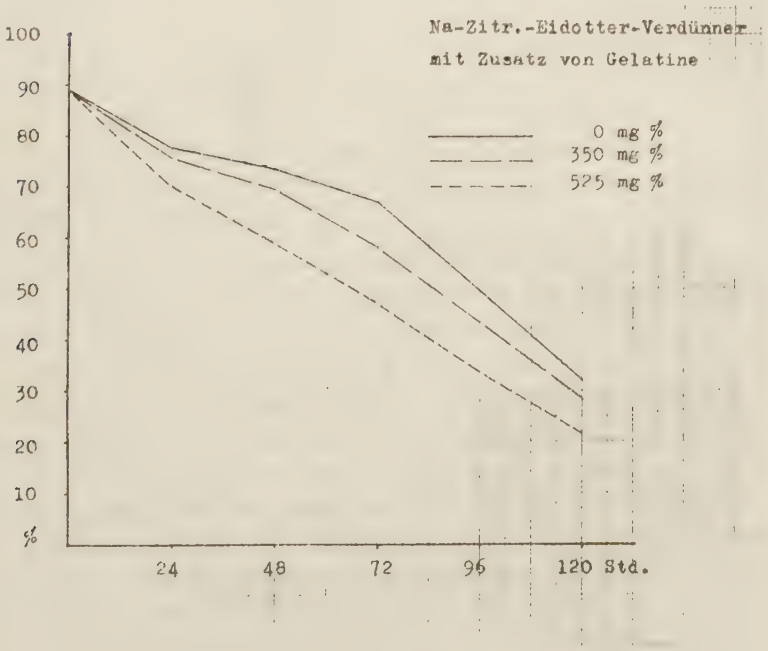

Abbildung 6

Extremwerte der Vorwärtsbewegung in %

Std.	Magenmilchverdünner mit Gelatinezusatz in mg % 0	350	525	Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Gelatinezusatz in mg % 0	350	525
0	80 - 95	80 - 95	80 - 95	80 - 95	80 - 95	80 - 95
24	60 - 95	55 - 95	50 - 90	50 - 95	50 - 95	20 - 95
48	50 - 95	50 - 90	40 - 80	40 - 95	45 - 90	10 - 90
72	50 - 90	30 - 85	5 - 80	40 - 90	20 - 90	10 - 80
96	5 - 85	5 - 80	0 - 75	5 - 80	5 - 75	5 - 70
120	0 - 75	0 - 70	0 - 65	0 - 80	0 - 70	0 - 65

Tabelle 24

3. Besprechung der Konservierungsergebnisse

In diesen Konservierungsversuchen konnte beobachtet werden, daß die Spermienbeweglichkeit in den Verdünnern mit Gelatinezusätzen im Vergleich zu den in gelatinefreien Verdünnern konservierten Ejakulaten deutlich zurückblieb. Die Verringerung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien nahm in beiden Verdünnern mit Vergrößerung des Gelatinezusatzes zu.

Sowohl im Magermilchverdünner als auch im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner lagen die Beweglichkeitsprozentsätze der Spermien nach 120-stündiger Konservierungszeit in den Versuchsreihen mit 525 mg % Gelatinezusatz mit 18,3 und 21,8 % um etwa 10 % unter den Untersuchungsergebnissen, die mit den gelatinefreien Verdünnern erzielt wurden. Bei Zusatz von 350 mg % Gelatine war nach 120 Stunden der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien im Magermilchverdünner mit 28,4 % um 4 % kleiner als im gleichen Verdünner ohne Gelatinezusatz.

Das entsprechende Ergebnis im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner war mit 24,4 % um 5 % unter dem Durchschnittswert des einfachen Natriumzitrat-Eidotter-Verdünners zu beobachten.

Die Konservierungsfähigkeit der beiden gelatinefreien Verdünner war nahezu gleich. Die täglichen Beweglichkeitsresultate lagen über die gesamte Untersuchungszeit eng beieinander und zeigten nach 120 Stunden im Magermilchverdünner mit 29,4 % und im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit 32,1 % vorwärtsbeweglicher Spermien keinen deutlichen Unterschied.

Wie die Tabelle 24 erkennen läßt, ist die Qualität der Spermienbewegung zu vergleichbaren Untersuchungszeiten in den jeweils 3 Versuchsreihen der beiden Verdünner sehr unterschiedlich. Obwohl anhand der Aufstellung der Extrem-

werte ein Abfall der Beweglichkeitsprozentzahlen mit Erhöhung der Gelatinezusätze zu erkennen ist, macht die Tabelle auch deutlich, daß sich die zu diesen Untersuchungen verwendeten Ejakulate sehr unterschiedlich konservieren ließen. Diese Feststellung trifft nicht nur auf die gelatinehaltigen, sondern auch auf die gelatinefreien Konservierungsreihen in beiden Verdünnern zu.

C) Konservierungsversuche mit Magermilch- und Natriumcitrat-Eigelb-Verdünner unter Zusatz von Tranquilizern

1. Vorversuche

In Vorversuchen mit 4 Ejakulaten, bei denen den Magermilchverdünner die Substanzen Promazin und Chlorpromazin in Mengen von 10, 50 und 100 mg % zugesetzt worden waren, konnte folgendes beobachtet werden:

Nach Zusatz von Tranquilizern konnten bei Untersuchungen der Spermienvorwärtsbewegung bereits nach 24-stündiger Konservierungszeit in den Proben mit einem Zusatz von 100 mg % Promazin und Chlorpromazin Werte ermittelt werden, die um 35 - 40 % niedriger lagen als in tranquilizerfreien Kontrollproben. Nach weiteren 24 Stunden -also 48 Stunden nach Versuchsbeginn- befanden sich in diesen Samenverdünnungen immer noch vereinzelt Spermien in intensiver Vorwärtsbewegung, während zu diesem Zeitpunkt in den Samenverdünnungen mit Tranquilizer-Zusätzen von 0, 10 und 50 mg % noch Vorwärtsbewegungen zwischen 50 und 60 % beobachtet werden konnten.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurden in den folgenden Hauptversuchen die Verdünnerzusätze von Promazin, Chlorpromazin und Prothipendyl-HCl in Konzentrationen von 0, 5, 10 und 50 mg gewählt.

2. Magermilchverdünner (Verdünner I) mit Zusätzen von Tranquilizern

In diesem Verdünner gelangten jeweils 11 Ejakulate mit Zusätzen von Promazin, Chlorpromazin und Prothipendyl-HCl in den Konzentrationen von 0, 5, 10 und 50 mg % zur Konservierung und wurden über einen Zeitraum von 120 Stunden durch tägliche Beurteilung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien in den jeweils 4 Versuchsreihen untersucht. In den Tabellen 25, 26 und 27 sind die Untersuchungsergebnisse der einzelnen Ejakulate nach Tranquilizern getrennt aufgeführt.
In der Tabelle 28 erfolgt eine Zusammenstellung der Durchschnittswerte, die sich aus den jeweils 11 Ejakulaten der Tabellen 25 - 27 ergeben.

Eine graphische Darstellung dieser Durchschnittswerte erfolgt nach Tranquilizerarten getrennt in den Abbildungen 7, 8 und 9.

Magermilchverdünner mit Zusätzen von Promazin

Lfd. Nr.	Eber	0						5 mg %					10 mg %					50 mg %				
		0	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120
				Stunden					Stunden					Stunden					Stunden			
1	1	85	85	80	80	60	60	85	80	75	45	30	85	80	80	15	10	85	85	80	25	25
2	2	80	85	85	75	60	55	80	75	75	60	40	75	75	75	10	5	80	75	75	50	40
3	3	95	95	90	80	75	75	90	85	70	65	45	90	80	55	5	5	85	85	50	5	5
4	1	95	95	85	85	50	25	85	85	80	45	10	85	85	75	35	10	95	80	70	10	5
5	2	95	95	90	85	70	0	80	85	85	70	0	90	80	80	45	0	85	85	75	30	0
6	3	95	85	80	75	50	50	80	75	70	45	25	80	75	65	40	20	75	75	65	20	20
7	5	90	80	70	65	20	0	70	70	65	30	10	85	85	70	40	25	85	85	75	45	5
8	1	95	90	90	75	20	20	90	90	75	15	5	85	85	75	15	5	90	90	60	0	0
9	2	95	95	85	75	60	20	95	80	70	5	1	90	80	80	50	25	90	80	80	50	25
10		95	80	80	80	55	50	80	80	80	55	30	80	75	70	50	45	80	80	70	40	40
11	4	90	75	65	60	20	20	75	60	40	15	5	75	60	55	15	5	80	65	55	20	10

Tabelle 25

Magermilchverdünner mit Zusätzen von Chlorpromazin

Lfd. Nr.	Eber	0						5 mg %					10 mg %					50 mg %				
		0	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120
				Stunden					Stunden					Stunden					Stunden			
1	1	85	85	80	80	60	60	85	80	70	50	30	85	75	70	30	15	70	70	45	10	5
2	2	80	85	85	75	60	55	80	70	70	55	30	85	85	80	30	30	80	80	10	0	10
3	3	95	95	90	80	75	75	95	95	80	75	55	90	90	70	70	10	95	85	60	60	0
4	1	95	95	85	85	50	25	85	80	70	50	20	85	80	70	60	5	90	80	40	20	1
5	2	95	95	90	85	70	0	85	80	75	65	0	90	75	70	60	0	80	70	50	40	0
6	3	95	85	80	75	50	50	80	75	70	50	50	90	75	55	50	40	85	70	40	30	5
7	5	90	80	70	65	20	0	90	70	60	50	5	90	75	60	45	20	85	75	60	45	5
8	1	95	90	90	75	20	20	85	75	60	25	1	90	80	60	25	1	90	75	40	10	0
9	2	95	95	85	75	60	20	90	85	75	0	0	90	85	75	25	5	90	85	60	20	1
10	3	95	80	80	80	55	50	80	80	75	50	35	85	80	75	50	40	85	80	75	40	5
11	4	90	75	65	60	20	20	70	60	40	20	5	70	50	50	15	5	70	70	45	20	5

Tabelle 26

Magermilchverdünner mit Zusätzen von Prothipendyl HCl

Lfd. Nr.	Eber	0						5 mg %						10 mg %						50 mg %					
		0	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120		24	48	72	96	120		24	48	72	96	120	
				Stunden					Stunden						Stunden						Stunden				
1	1	95	85	85	65	45	30	85	80	65	40	30		85	80	65	45	35		85	80	60	35	30	
2	2	95	85	85	80	65	60	85	85	80	60	35		80	80	75	60	50		80	80	60	45	30	
3	3	95	85	85	80	65	65	85	85	65	60	60		85	85	65	65	50		85	85	70	65	50	
4	4	90	85	75	65	55	30	85	75	55	55	30		80	75	60	50	25		85	80	45	45	25	
5	1	95	85	80	65	30	10	85	80	55	25	0		85	80	60	20	0		80	70	45	10	0	
6	2	90	90	90	90	80	55	90	90	90	75	30		90	90	90	70	30		90	90	85	55	15	
7	3	95	95	85	75	35	5	95	90	80	40	0		90	80	75	35	0		90	80	65	20	0	
8	1	95	80	75	60	50	30	80	70	60	50	30		80	70	55	45	20		80	65	55	45	20	
9	2	95	90	80	75	65	55	90	80	75	65	55		85	80	75	50	35		90	80	65	35	15	
10	3	95	90	80	65	45	40	90	75	65	50	40		90	75	60	50	40		90	80	60	50	40	
11	4	95	90	85	75	65	55	90	75	65	60	45		90	80	65	35	30		90	80	65	35	15	

Tabelle 27

Darstellung der Durchschnittswerte der Spermien-Vorwärtsbewegung (in %)

(Verdünner I)

Konservierungszeit (Stunden)	Promazinzusätze in mg %				Chlorpromazinzusätze in mg %				Prothipendyl-HCl-Zusätze in mg %			
	0	5	10	50	0	5	10	50	0	5	10	50
24	87,3	82,7	83,6	84,5	87,3	84,1	86,4	83,6	87,3	87,3	85,5	85,9
48	81,8	78,6	78,2	80,5	81,8	77,3	77,3	76,4	82,3	80,5	79,6	79,1
72	75,9	71,4	70,9	68,6	75,9	67,7	66,8	47,7	72,3	68,6	68,6	61,4
96	49,1	40,9	29,1	26,8	49,1	44,5	41,8	26,8	54,6	52,7	47,7	40,0
120	34,1	18,2	14,1	15,9	34,1	21,0	15,5	3,4	39,6	32,3	28,6	21,8

Tabelle 28

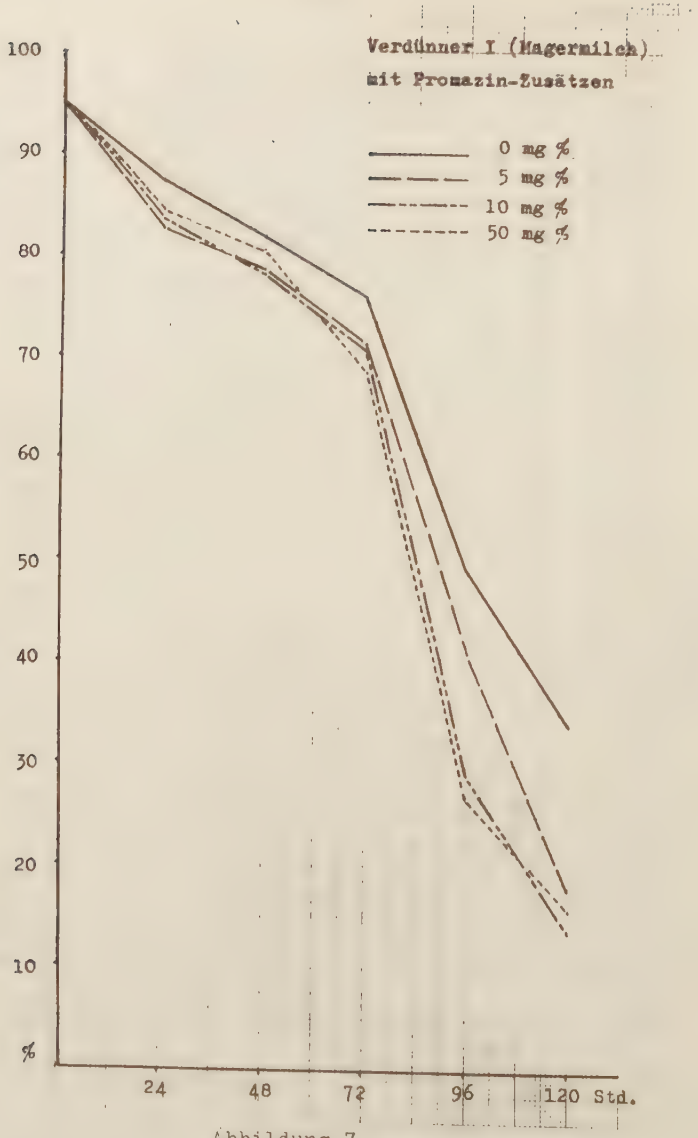
Verdünner I (Magermilch)
mit Promazin-Zusätzen
0 mg %
5 mg %
10 mg %
50 mg %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
%
24
48
72
96
120 Std.

Abbildung 7

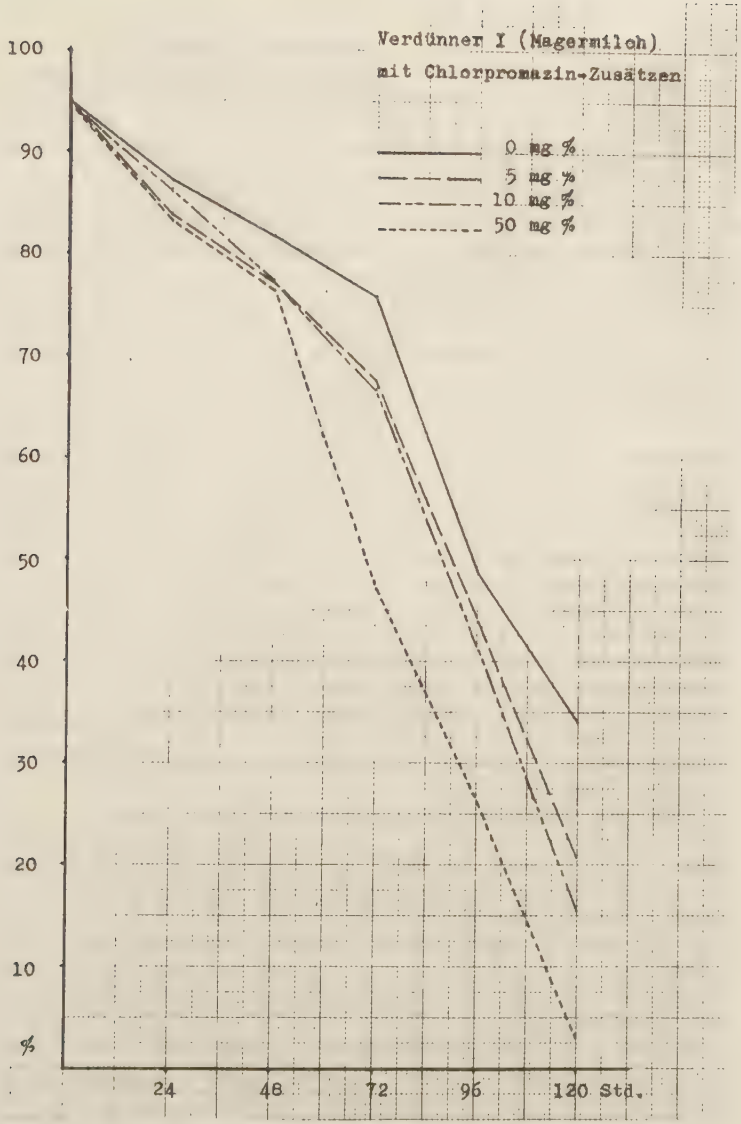
Verdünner I (Magermilch)
mit Chlorpromazin-Zusätzen
0 mg %
5 mg %
10 mg %
50 mg %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
%
24
48
72
96
120 Std.

Abbildung 8

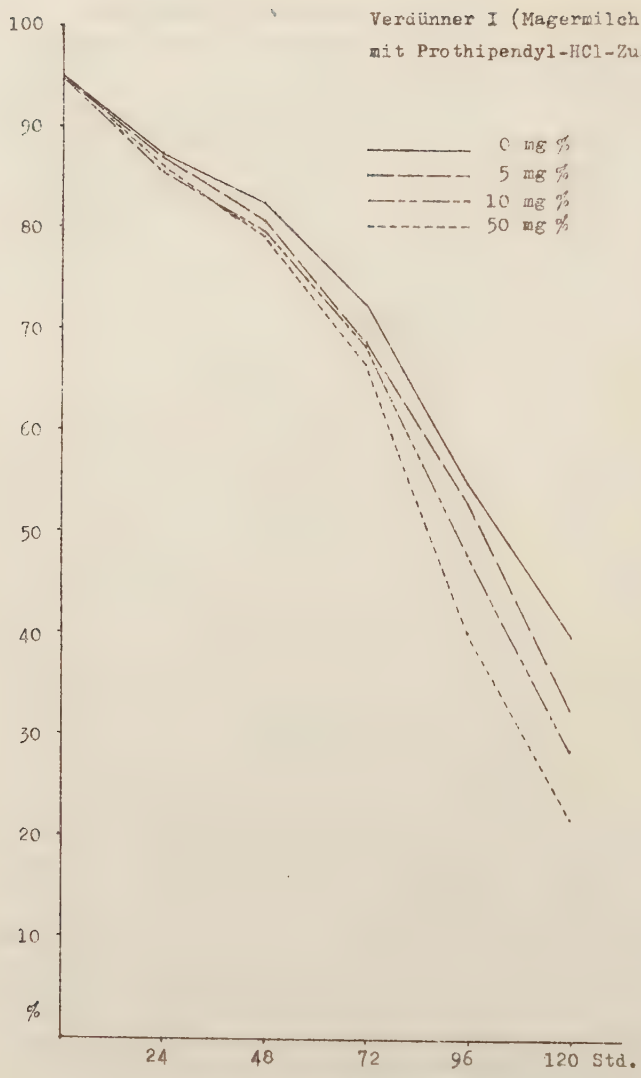
Verdünner I (Magermilch)
mit Prothipendyl-HCl-Zusätzen
0 mg %
5 mg %
10 mg %
50 mg %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
%
24
48
72
96
120 Std.

Abbildung 9

3. Besprechung der Ergebnisse

Die Prozentsätze intensiv vorwärtsbeweglicher Spermien lagen im Durchschnitt in den Kontrollversuchen -ohne Tranquilizerzusätze- zu allen Untersuchungszeiten und in allen 3 Tranquilizerreihen höher als in den Verdünnern mit Zusatz von Tranquilizern. Diese Unterschiede waren in den ersten 72 Stunden der Untersuchungszeit noch gering, zeichneten sich jedoch mit zunehmender Versuchsdauer deutlicher ab. Eine schädigende Wirkung der Tranquilizerzusätze war am 4. und 5. Untersuchungstag mit zunehmender Dosierungshöhe offensichtlich. Während die Beweglichkeitsprozentsätze der Spermien nach 120 Stunden mit einem Zusatz von 50 mg % Prothipendyl-HCl (Dominal) noch 21,8 und mit 50 mg % Promazin noch 15,9 betrugen, konnten bei gleicher Dosierungshöhe mit Chlorpromazin nur noch 3,4 % der Spermien in Vorwärtsbewegung beobachtet werden. Ein Zusatz von Prothipendyl-HCl zeigte gegenüber den anderen beiden Tranquilizerarten die geringste schädigende Wirkung auf die Spermien, Chlorpromazin dagegen die größte Spermaschädigung.

4. Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner (Verdünner II) mit Zusätzen von Tranquilizern

In diesem Verdünner gelangten wie im Magermilchverdünner ebenfalls jeweils 11 Ejakulate mit Zusätzen von Promazin Chlorpromazin und Prothipendyl-HCl in den gleichen Dosierungshöhen wie im Magermilchverdünner zur Konservierung. Die Untersuchungszeit lief ebenfalls über 120 Stunden. In den Tabellen 29, 30 und 31 sind die täglichen Untersuchungsergebnisse der einzelnen Ejakulate nach Tranquilizern getrennt aufgeführt.
In der Tabelle 31 erfolgte eine Zusammenstellung der Durchschnittswerte, die sich aus den jeweils 11 Ejakulaten der Tabellen 29 - 31 ergeben.

Eine graphische Darstellung dieser Durchschnittswerte erfolgte nach Tranquilizerarten getrennt in den Abbildungen 10, 11 und 12.

Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Zusätzen von Promazin

Lfd. Nr.	Eber	0						5 mg %					10 mg %					50 mg %				
		0	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120
				Stunden					Stunden					Stunden					Stunden			
1	1	95	75	75	65	65	65	70	70	40	30	20	70	65	35	20	10	70	60	35	20	1
2	2	95	80	80	70	60	55	75	80	70	40	20	75	80	65	45	25	80	80	65	45	20
3	3	95	80	70	70	50	35	80	65	60	35	5	80	70	65	50	1	80	70	50	50	10
4	4	90	80	70	70	40	30	80	70	65	40	0	70	70	60	35	0	70	65	[illegible]	35	0
5	1	95	85	85	80	65	40	85	80	80	65	40	85	80	80	65	15	85	80	80	65	15
6	2	90	85	80	80	50	35	75	75	70	55	40	80	80	70	50	10	[illegible]	75	50	25	15
7	3	95	80	80	80	70	65	80	80	80	55	35	80	80	80	45	2[illegible]		[illegible]	70	30	15
8	1	95	80	65	55	40	10	80	65	55	40	1	80	65	50	35	20	80	60	45	35	1
9	2	95	90	65	65	55	40	85	65	65	40	35	85	60	55	45	40	90	70	50	40	35
10	3	95	85	80	70	60	35	85	80	70	55	35	85	80	65	55	35	85	80	70	45	0
11	4	95	85	80	80	65	25	80	80	75	60	25	80	80	65	65	5	90	80	75	65	5

Tabelle 29

Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Zusätzen von Chlorpromazin

Lfd. Nr.	Eber	0						5 mg %					10 mg %					50 mg %				
		24	48	72	96	120		24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120
		Stunden						Stunden					Stunden					Stunden				
1	1	75	75	65	65	65		70	60	40	20	5	70	60	30	25	5	75	60	25	25	5
2	2	80	80	70	60	55		80	80	65	50	20	80	80	70	55	25	75	75	65	45	25
3	3	80	70	70	50	35		80	70	70	50	10	80	70	70	50	10	85	65	65	55	25
4	4	80	70	70	40	30		80	70	65	35	0	80	70	65	40	0	70	55	55	45	0
5	1	85	85	80	65	40		85	80	80	55	30	90	85	70	45	25	85	75	65	30	20
6	2	85	80	80	50	35		80	80	80	55	40	80	85	80	50	30	75	70	65	50	25
7	3	80	80	80	70	65		80	80	80	60	45	80	80	80	60	45	80	80	65	50	5
8	1	80	65	55	40	10		75	60	55	40	5	75	60	55	35	5	80	65	45	40	5
9	2	90	65	65	55	40		80	60	45	35	10	80	65	55	40	25	80	65	55	50	30
10	3	85	80	70	60	35		85	80	60	55	5	85	80	65	60	15	85	80	65	50	30
11	4	85	80	80	65	25		80	80	75	65	15	85	75	70	65	10	85	80	75	50	0

Tabelle 10

Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner mit Zusätzen von Prothipendyl-HCl

Lfd. Nr.	Eber	0						5 mg %					10 mg %					50 mg %				
		0	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120
				Stunden					Stunden					Stunden					Stunden			
1	1	95	75	75	65	65	65	80	70	40	20	5	70	70	40	20	10	65	65	20	20	5
2	2	95	80	80	70	60	55	80	80	70	45	30	80	80	70	40	30	80	80	70	50	35
3	3	95	80	70	70	50	35	80	75	65	50	20	80	75	70	55	20	80	75	75	50	20
4	4	90	80	70	70	40	30	85	75	60	40	0	80	70	55	45	0	80	60	55	40	0
5	1	95	85	85	80	65	40	85	80	70	50	25	85	75	65	45	15	80	75	50	20	20
6	2	90	85	80	80	50	35	85	80	80	55	30	80	80	80	50	10	75	70	55	45	20
7	3	95	80	80	80	70	65	80	80	80	55	35	80	80	80	60	35	75	65	55	35	20
8	1	95	80	65	55	40	10	75	60	45	35	15	75	60	50	35	10	80	60	45	30	15
9	2	95	90	65	65	55	40	85	60	60	50	20	80	60	60	35	15	85	65	60	35	20
10	3	95	85	80	70	60	35	85	75	70	60	35	75	70	60	50	35	75	70	65	50	20
11	4	95	85	80	80	65	25	80	80	75	50	15	80	75	75	60	30	85	80	80	65	25

Tabelle 31

Darstellung der Durchschnittswerte der Spermien-Vorwärtsbewegung (in %)

(Verdünner II)

Konservierungszeit (Stunden)	Promazinzusätze in mg %				Chlorpromazinzusätze in mg %				Prothipendyl-HCl-Zusätze in mg %			
	0	5	10	50	0	5	10	50	0	5	10	50
24	82,3	79,5	79,1	80,9	82,3	79,5	80,5	80,5	82,3	81,8	78,6	78,2
48	75,5	73,6	73,6	72,7	75,5	72,7	73,6	70,0	75,5	74,1	72,3	69,5
72	71,4	66,4	62,7	58,6	71,4	65,0	64,6	58,6	71,4	65,0	64,1	57,3
96	56,4	46,8	46,4	41,4	56,4	47,3	47,7	42,7	56,4	46,4	45,0	42,7
120	39,5	23,3	16,9	10,6	39,5	18,6	17,7	15,0	39,5	20,9	19,1	18,2

Tabelle 32

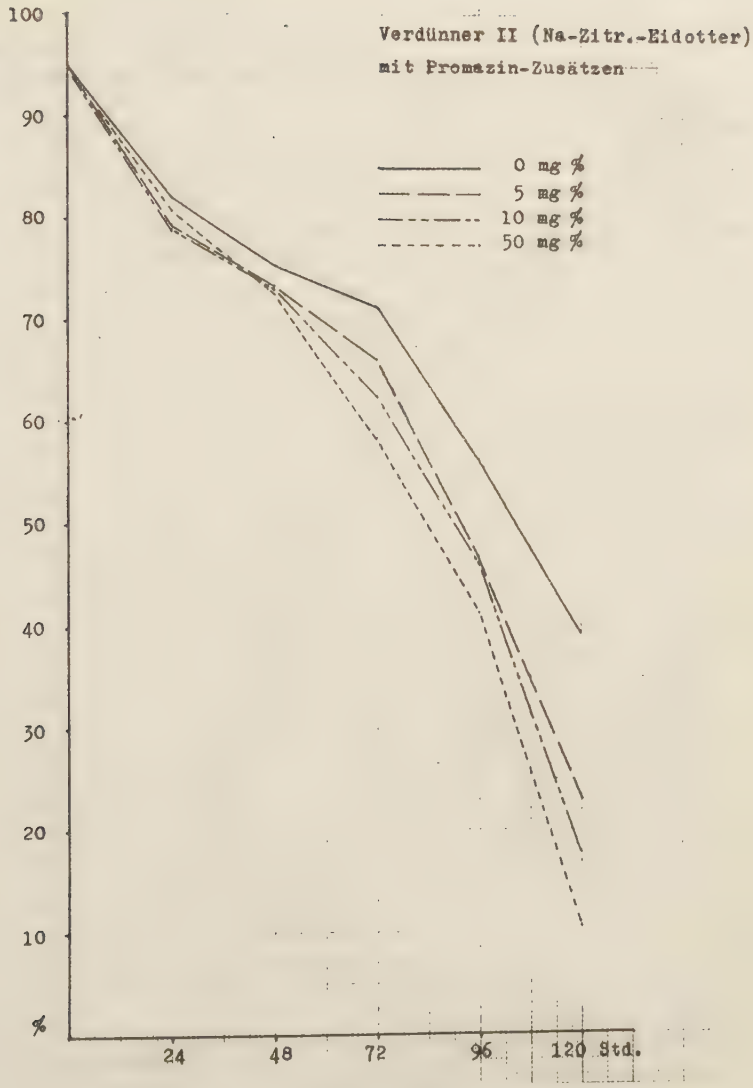

Abbildung 10

Abbildung 11

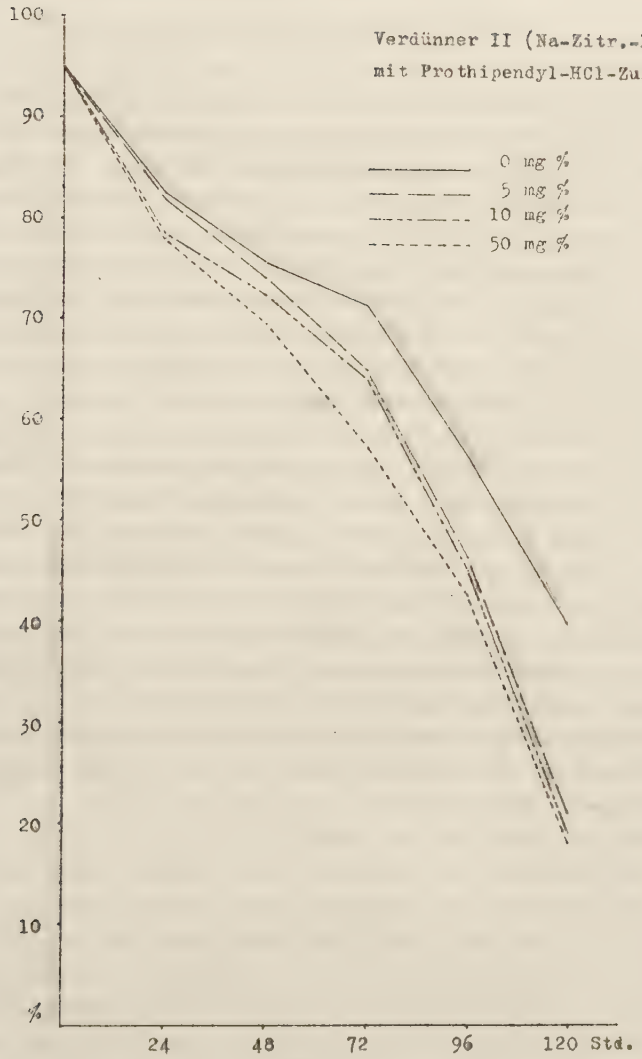

Abbildung 12

5. Besprechung der Konservierungsergebnisse

Wie bei den Versuchsergebnissen im Magermilchverdünner so konnte auch im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner durch Zusätze der 3 Tranquilizersubstanzen zur Samenverdünnung ein Absinken der Beweglichkeitsprozentsätze der Spermien beobachtet werden. Mit zunehmender Tranquilizerkonzentration im Verdünner verschlechterten sich die prozentualen Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien deutlich. Dies war über die gesamte Untersuchungszeit zu beobachten. Wie aus der Tabelle 32 sowie den Abbildungen 10 - 12 ersichtlich ist, lagen die Versuchsergebnisse in den 3 Tranquilizerkonzentrationen jeweils dicht beieinander, deutlich war jedoch der Unterschied zwischen den Ergebnissen in den Tranquilizerversuchen zu den tranquilizerfreien Kontrollproben. Eine Schädigung der Spermien durch die Sedativazusätze war auch im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner in allen 3 Dosierungsgrößen offensichtlich, wobei in diesen Versuchen die Schädigung durch Promazinzusätze die größte zu sein schien. Die durchschnittliche Beweglichkeitszahl zeigte bei diesem Tranquilizer (50 mg %) mit 10,6 % vorwärtsbeweglicher Spermien den kleinsten Wert, gegenüber 15,0 % mit 50 mg % Chlorpromazin und 18,2 % mit 50 mg % Prothipendyl-HCl.

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Bei den durchgeführten Sedimentierungsuntersuchungen konnte festgestellt werden, daß die Spermien im Magermilch- und Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner ohne Gelatinezusatz mit unterschiedlicher Geschwindigkeit absanken. Die Verdünner mit ihren Viskositätsgraden von 2,715 cP für den Magermilchverdünner und von 5,329 cP für den Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner waren nicht ausreichend, um die Spermien für eine längere Zeit in ihrer am Anfang der Untersuchung festgestellten Konzentration zu halten. Während die Spermien im Magermilchverdünner bereits 12 Stunden nach Versuchsbeginn nahezu das Vierfache ihrer Ausgangsdichte in Bodennähe erreicht hatten, war die Spermakonzentration in dieser Meßhöhe nach 96 Stunden auf mehr als das Zehnfache angestiegen. In den oberen Meßhöhen der Samenverdünnung (Meßhöhen 8, 6 und 4 cm) war die Spermiendichte auf unter 4 % der Ausgangsdichte gefallen. Die Spermiensedimentation ging in diesem Verdünner sehr schnell, jedoch kontinuierlich vor sich.

Im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner hatte die Spermiensedimentation einen wesentlich anderen Charakter. Sie lief hier mit einer Sedimentation der im Verdünner suspendierten Eidotterkügelchen parallel. Die Dichtenzunahme am Boden des Glases war 12 Stunden nach Versuchsbeginn erst auf das Doppelte erfolgt, und am Ende der Versuche, nach 96 Stunden, hatte sie erst das Dreifache der Ausgangsdichte erreicht. Dagegen waren bei Versuchsende (96 Stunden) in den oberen Schichten -dies machte etwa die Hälfte des Samenglases aus- kaum noch Spermien anzutreffen. Mit dem Absinken der Eidotterbestandteile waren die Spermien in den Meßhöhen 8 und 6 mit 0,1 - 0,2 % der Ausgangsdichte fast vollständig verschwunden. Die Spermienkonzentration in Meßhöhe 4 lag mit 102,7 % nur geringgradig über der Dichte, die bei Versuchsbeginn gemessen

[illegible] Sedimentation im Natriumzitrat- [illegible] war sehr langsame, wurde jedoch wesentlich von der Eidottersedimentierung beeinflußt. Mit dem Absinken der Dotterbestandteile aus den oberen Schichten der Samenverdünnung verschwanden auch die Spermien. Im dotterhaltigen Bereich der Samenverdünnung erfolgte die Spermiensedimentation nur sehr langsam.

Wurden den beiden Verdünnern Gelatinemengen in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt - 175, 350 und 525 mg % -, so konnte mit Zunahme der Verdünnerviskositäten auch eine Verringerung der Spermiensedimentation festgestellt werden.

Wenn im Magermilchverdünner nach 96-stündiger Untersuchungszeit am Boden der Samenverdünnung mit 572,2 % fast das Sechsfache der Ausgangsdichte gemessen worden, betrug die Spermiendichte bei Zusatz von 350 mg % Gelatine zur selben Untersuchungszeit nur 230 % der Ausgangsdichte und war mit 525 mg % Gelatinezusatz nur auf 127,4 % gestiegen.

Bei [illegible] Gelatinekonzentration erfolgte die Spermiensedimentation auch in den oberen Schichten der [illegible] Der Zusatz von 175 mg % Gelatine genügte in diesem Verdünner nicht, um die Spermien an [illegible] zu hindern. Nach 96 Stunden Versuchszeit waren in der Meßhöhe 3 nur 1,1 % und in Meßhöhe 6 [illegible] % der ursprünglichen Spermiendichte anzutreffen. In der Meßhöhe 4 waren mit 52,1 % nur noch die Hälfte der in [illegible] gemessenen Spermienkonzentration [illegible].

Bei einem Zusatz von 350 mg % Gelatine waren 96 Stunden nach Versuchsbeginn in Meßhöhe 3 noch 44 % und bei Zusatz von 525 mg % Gelatine sogar 68,7 % der Ausgangsdichte festzustellen. Besonders bei dem hohen Gelatinezusatz [illegible] eine sehr langsame Spermiensedimentierung zu beobachten.

Im dotterhaltigen Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner war ebenfalls eine wesentlich langsamer verlaufende Spermiensedimentation zu beobachten, als dies im gelatinefreien Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner festgestellt worden war. Obwohl die Viskositätsgrade in diesem Verdünner durch die 3 Gelatinezusätze auf 8,187; 12,495 und 26,466 cP gesteigert werden konnten, war eine Sedimentierung der Dotterbestandteile des Verdünners nicht zu verhindern. Am letzten Untersuchungstag (96-Stunden-Wert) war in allen 3 gelatinehaltigen Samenverdünnungen in der Meßhöhe 8 neben dem Eidotter auch die Spermienkonzentration fast vollständig verschwunden. Bei Zusatz von 175 mg % Gelatine betrug die Spermiendichte in dieser Höhe nur noch 1,4 % bei Zusatz von 350 mg % Gelatine noch 1,6 % und bei Zusatz von 525 mg % Gelatine noch 7,7 % der bei Versuchsbeginn gemessenen Spermienkonzentration. In den tieferen Schichten der Samenverdünnungen war die Sedimentation der Spermien sehr langsam und kam bei Zusatz von 525 mg % Gelatine fast vollständig zum Stillstand. Nach 96-stündiger Untersuchungszeit waren bei 175 mg % Gelatinezusatz am Boden des Glases noch 170,8 % der Spermienanfangsdichte festzustellen, bei Zusatz von 350 mg % Gelatine waren es noch 134,2 % und bei Zusatz von 525 mg % Gelatine nur noch 115,2 %. Bei der letzten Gelatinekonzentration war nach 96 Stunden in Meßhöhe 6 sogar noch die zu Versuchsbeginn gemessene Spermiendichte vorhanden.

Sowohl im Magermilch- als auch im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner konnte mit steigenden Gelatinezusätzen in den Verdünnern -verglichen mit gelatinefreien Kontrollkonservierungen- eine deutliche Verschlechterung der Konservierungsergebnisse festgestellt werden. Die Prozentsätze vorwärtsbeweglicher Spermien lagen nach 120 Stunden Konservierungszeit im Magermilchverdünner mit Zusätzen von 350 und 525 mg % Gelatine mit 24,4 und 18,3 % um 5 und 11 % unter den Ergebnissen, die im gelatinefreien Magermilchverdünner erzielt worden waren.

Im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner lagen die Beweglichkeitsprozentsätze der Spermien mit 350 mg % Gelatinezusatz etwa 4 % und mit 525 mg % etwa 10 % unter den Versuchsergebnissen der gelatinefre[i]n Kontrollkonservierung (32,1 %). Eine Verbesserung der Konservierungsergebnisse von Ebersamen mit Zusätzen von Gelatine zum Verdünner ist nach den vorliegenden Untersuchungen nicht möglich.

Bei Konservierungsversuchen, die mit Zusätzen von Tranquilizern in verschiedenen Dosierungshöhen in beiden Verdünnern durchgeführt wurden, konnte festgestellt werden, daß mit keiner der zur Untersuchung gelangten Tranquilizerarten eine Verbesserung der Konservierungsergebnisse - gemessen an tranquilizerfreien Kontrolluntersuchungen - erreicht werden konnte.
Sowohl im Magermilch- als auch im Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner konnte bei Zusatz von allen 3 Tranquilizerarten in den Dosierungshöhen 5, 10 und 50 mg % mit zunehmender Tranquilizerkonzentration ein Absinken der Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien beobachtet werden.
Eine Verbesserung der Konservierungsergebnisse von Ebersamen durch Zusätze der 3 verwendeten Tranquilizerarten in den angegebenen Konzentrationen ist nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen nicht möglich.

Nach Vergleich der vorliegenden Untersuchungsresultate mit den Ergebnissen der im Literaturteil besprochenen Autoren, kann festgestellt werden:

Die in den Konservierungsuntersuchungen mit Gelatinezusätzen zum Verdünner gemachten Erfahrungen decken sich mit den Versuchsresultaten von EIBL und Mitarbeitern (1960). Trotz der durch den Gelatinezusatz erzielten Viskositätserhöhung auf 17 beziehungsweise 26 cP konnte zwar eine weitgehende Verzögerung beziehungsweise Aufhebung der Spermiensedimentation, jedoch keine Verbesserung der Konservierungsresultate erzielt werden. Gelatine ist

offensichtlich nicht geeignet, zur Verbesserung der Ebersamenkonservierung beizutragen.

Die von NISHIKAWA bei Verwendung von Chlorpromazinzusätzen in Höhe von 200 mg % in der Bullenspermakonservierung gemachten Feststellungen konnten bei den vorliegenden Eberspermakonservierungsversuchen mit weit kleineren Dosierungen nicht bestätigt werden. Die eigenen Untersuchungsergebnisse decken sich mit den Erfahrungen von FOOTE und GRAY (1960), die ebenfalls eine Verschlechterung der Konservierungsergebnisse durch Zusatz von Tranquilizern bei der Konservierung von Bullensamen -verglichen an den Ergebnissen mit tranquilizerfreien Kontrolluntersuchungen - festgestellt haben.

E. ZUSAMMENFASSUNG

An 140 Ejakulaten von 4 Ebern wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

a) Es wurde über 96 Stunden durch tägliche Untersuchungen die Spermiensedimentierung in 1 : 6 verdünnten Ejakulaten beobachtet. Dazu standen 2 Verdünner zum Vergleich.

I. Magermilchverdünner nach WETTKE und HUHN (1962)

mit Zusatz von 5 ccm Eidotter sowie als Antibiotikaschere 0,1 g Dihydrostreptomycinsulfat und 100 000 I.E. Penicillin-G-Natrium

II. Natriumzitrat-Eidotter-Verdünner nach ROTHE (1960)

1,0 g Na-zitrat, 0,5 g Glycin, 0,3 g Sulfanilamid, 30,0 ml Eidotter ad 100 ml Aqua destillata, mit einer Antibiotikaschere wie bei Verdünner I

In beiden Verdünnern erfolgte ein sehr schnelles Absinken der Spermien und es bildete sich schon am 1. Untersuchungstag ein dichtes Spermiensediment am Boden des Glasgefäßes.

b) Die Sedimentierung wurde in gleicher Weise in beiden Verdünnern nach Zusatz von jeweils 175, 350 und 525 mg % Gelatine kontrolliert. Mit zunehmenden Gelatinekonzentrationen erhöhte sich die Verdünnerviskosität und die Sedimentierungsgeschwindigkeit der Samenzellen verringerte sich. In der Gelatinekonzentration von 525 mg % war die Spermiensedimentierung fast vollständig aufgehoben.

c) Bei Konservierungsversuchen in den beiden Verdünnern mit den gleichen unter b) aufgeführten Gelatinezusätzen zeigte sich bei den täglichen Auswertungen, daß

mit steigenden Gelatinezusätzen die prozentualen Anteile vorwärtsbeweglicher Spermien geringer wurden. Gelatinezusätze sind nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen trotz Aufhebung der Spermiensedimentierung nicht geeignet, die Konservierungsergebnisse bei Ebersperma zu verbessern.

Den beiden Verdünnern wurde zur Konservierung des Ebersamens Promazin, Chlorpromazin sowie Prothipendyl-HCl in Konzentrationen von 5, 10 und 50 mg % zugefügt und deren Wirkung auf die Spermienbeweglichkeit über 120 Stunden durch tägliche Auswertungen untersucht. Den Ergebnissen dieser Versuche zufolge haben diese Zusätze keinen lebensverlängernden Effekt auf Eberspermien. Ein deutliches Absinken der Spermienbewegung war mit steigenden Tranquilizerkonzentrationen festzustellen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AAMDAL, J. u. L. HÖGSET (1957) — Artificial insemination in swine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 131, 59-64

2. AAMDAL, J., L. HÖGSET, O.SVEBERG u. N. KOPPANG (1958) — A new type of artificial vagina an a new collection technique of boar semen. J.Amer.Vet.Med.Ass. 132, 101 - 104

3. AAMDAL, J. (1960) — Die künstliche Besamung beim Schwein. Vortrag gehalten auf der Fachtagung für künstliche Besamung in Wels, Österr. zit. nach ROTHE, K. (1963) Arch. Exper.Vet.Med. 16, 957-1089

4. ALMQUIST, J.O. (1954) — Diluters for bovine semen. V. A comparison of heated milk and egg yolk-citrate as diluters for semen from bulls of high and low fertility. J. Dairy sci. 37, 1308-1315

5. ANDERSON, J. (1945) — The semen of animals and its use for artificial insemination Imperial Bureau of Animal Breeding and Geneties, Edinburgh.

6. BAIER, W. u. A. GRAUVOGEL (1959) — Samenabnahme beim Eber in der tierärztlichen Praxis. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 72, 150-152

7. BANE, A. (1959) Some results of studies on the semen of young boars and on artificial insemination in pigs. Ann. Zootech. 8, 15-20

8. BIALY, G. u. H.L. SELF (1959) The storage potential and citric acid content of fractioned ejakulates of the boar. J.Anim. Sci. 18, 374-382

9. BONADONNA, T. (1940) Manuale di tecnica della fecondazione artifeciale degli animali. Milesi, Milano zit. nach HOF, H. (1956) Die künstliche Besamung des Schweines im Schrifttum. Vet.med.Diss. Gießen

10. DU MESNIL DU BUISSON, F. u. L. DAUZIER (1959) Maintien du pouvoir fécondant du sperme de verrat en présence de gaz carbonique. Compt.rend.acad.sci. 247, 2472-2475

11. DZIUK, P.J. (1958) Dilution and storage of boar semen. J.Anim.Sci. 17, 548-553

12. EIBL, K., H.F. ZODER u. R. HAHN (1959) Stand des CO_2-Inaktivierungsverfahrens. Dtsch. tierärztl.Wschr. 66, 301-304

13. EIBL, K., H.F. ZODER u. R. HAHN (1960) Über Versuche, die Sedimentierung der Spermien im Verdünner zu unterbinden. (Vorläufige Mitteilung) Dtsch. tierärztl.Wschr. 67, 233-236

14. FOOTE, R.H., D.C. YOUNG, R.A. TURKHEIMER u. R.W. BRATTON (1959) Collection, preservation and artificial insemination of boar semen. Ann. Zootech. 8, 27-30

15. FOOTE, R.H. u. L.C. GRAY (1960) Effect of promazine hydrochloride and chlorpromazine hydrochloride on the motility and fertility of bovine semen. J. Dairy Sci. 43, 1499-1504

16. FOOTE, R.H. u. L.C. GRAY (1964) Wirkung von Tranquilizern auf Libido, Spermienproduktion und Spermien-Überlebenszeiten in vitro bei Hunden. Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 114, 396-398

17. GLOVER, T.D. u. T. MANN (1954) On the composition of boar semen. J.Agric.Sci. 44, 355-360

18. GLOVER, T.D. (1956) The semen of the pigs. Vet.Rec. 67, 36-40

19. GÖTZE, R. (1933) Über die neuen russischen Methoden der künstlichen Besamung bei Haustieren. Dtsch. tierärztl.Wschr. 41, 801-807 u. 820-824

20. GÖTZE, R. (1949) Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere. Schaper, Hannover

21. HEIDRICH, H.J., D. ROHLOFF u. U. v.PUSCH (1964) Beitrag zur Ebersperma-Konservierung der spermareichen Hauptphase in eidotterhaltigen Verdünnern. Dtsch. tierärztl.Wschr. 71, 662-664

22. HERRICK, J.B. (1949) Semen examination to determine fertility in swine. Vet.Med. 44, 393

23. HIMWICH, H.E. (1957) Tranquilizing drugs. Am.Assoc.Adv.Sci.Publ. No 46 Washington D.C. 1957 zit. nach FOOTE u. GRAY(1960) J.Dairy Sci. 43, 1499-1504

24. HOFFMANN, H. (1959) Versuche zur Frostkonservierung des Ebersamens. Vet.med.Diss. München

25. IRWIN, D.H.G. (1959) A comparison of diluents and storage temperatures for swine semen. J.South.Afric.Vet.Med.Ass. 30, 137-141 zit. nach NIWA (1961) IV. Intern. Congr.Anim.Reprod., Den Haag

26. ITO, S., T. NIWA u. A. KUDO (1948) Studies on artificial insemination in pigs. I. On the method of collection of semen and the condition of ejaculation. Bull.Zootech.Exper.Station 55, 57-74

27. JAKOBSEN, K.F. (1959) A Danish experiment of artificial insemination in swine. Ann. Zootech. 8, 37-41

28. JAKOBSEN, K.F. u. T. MANN (1960) Biochemical appraisal of a milk diluent for semen. J.Agric.Sci. 54, 166

29. JOHARI, M.P. (1956) The gel mass in the semen of the boar. Vet.Rec. 68, 158-163

30. KARG, H. u. W. LEIDL (1959) — Untersuchungen über die Zusammensetzung von Schweinesperma. Zuchthyg. 3, 232-242

31. KOPERA, J. u. A.K. ARMITAGE (1954) — Comparison of some pharmacological proterties of Chlorpromazine, Promethazine, Pethidine. Brit. J. Pharmacol. 9, 392

32. KUSNEZOW, N., W. MILOWANOW, W. NAGAJEW, O. NEUMANN u. P. SKATKIN (1932) — Temperatur- und Lichteinwirkung auf die Lebensfähigkeit der Spermatozoiden. (Russ.) Künstl.Besamung 179, Moskau Ref. in Züchtungsk. 9, 467 (1934)

33. KWASNITZKI, A.W. (1959) — Méthode fractionée d'insémination artificielle des truies. Ann.Zootech. 8, 43-58

34. LINDAHL, P.E. u. K. WEDIN (1959) — A simplified method of preparing buffered eggyolk extracts used as diluter for human and bull semen. Experientia 15, 357

35. LIESS, J. u. D. GROVE (1963) — Beitrag zur Inaktivierung von Ebersamen durch Begasung des unverdünnten Ejakulates mit Kohlendioxyd. Dtsch.tierärztl.Wschr. 70, 433-437

36. LUTWAK-MANN, C. u. T. MANN (1954) — unveröffentlicht zit.nach T.MANN (1958) Biochemical basis of spermicidal activity. Studies on Fertility 9, 1

37. MADDEN, D.H.L. (1959) Field experience of pig A.I. in Hampshire U.K. Ann.Zootech. 8, 59-67

38. MANN, T. (1954) The biochemistry of semen. Methuen u. Co., London

39. MANN, T. (1961) Forschungsprobleme auf dem Gebiet der Physiologie und Biochemie der Fortpflanzung der Tiere. Schweizer Arch. Tierheilk. 103, 359-378

40. McKENZIE, F.F., J.C. MILLER u. L.C. BAUGUESS (1938) The reproductive organs and semen of the boar. Mo.Agric.Exper.Sta.Res.Bull. 279, 122

41. MILOWANOW, V.K. (1957) Die Technik der künstlichen Besamung beim Schwein. (russ.) Swinowodstwo 2, 14-19 zit. nach SCHAETZ, F. (1963)

42. MILOWANOW, V.K. u. J. SOKOLOWSKAJA (1960) Die künstliche Besamung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Die Presse der Sowjetunion, Sonderbeilage 35 zit. nach SPREMBERG (1963) Vet.med.Diss. HU Berlin

43. NISHIKAWA zit. nach BONADONNA, T. (1961) Probleme der Fortpflanzung und der künstlichen Besamung der Tiere in Japan. Zuchthyg. 5, 169-177

44. NIWA, T., A. MIZUHO u. S. ISHIKAWA (1952) Physico-chemical studies on semen. I. Physical properties of boar semen and their variation influenced by successive ejaculations and storage. Bull.Nat.Inst.Agr.Sci.,Serie G, 3,89

45. NIWA, T. (1958) Artificial insemination with swine in Japan. Nat.Inst.Agric.Sci., Chiba-city

46. NIWA, T., A. MIZUHO u. A. SOEJIMA (1959a) Studies on the artificial insemination in swine. V. Use of egg-yolk-citrate-glucose diluent for the preservation of boar semen. Bull.Nat.Inst.Agr. Sci.,Serie G, 19, 25-38

47. NIWA, T., A. MIZUHO u. A. SOEJIMA (1959b) Studies on the artificial insemination in swine. VI. Use of milk-powder diluent for the preservation of boar semen. Bull.Nat.Inst.Agric.Sci.,Serie G, 19, 39-46

48. NIWA, T. (1961) Researches and practices in the artificial insemination of pigs. IV. Intern.Congr.Anim.Reprod. Den Haag, 83-115

49. NOLL, D. (1949) Studies on longevity of the sperm of the boar. Philipp.J.Anim.Ind. 10, 247-259

50. OLBRYCHT, T.M. (1938) Die künstliche Besamung der Haustiere. Tierärztl. Mitt. 19, 971-976

51. PAREDIS, F. (1959) A comparison between three diluents for boar semen. Ann. Zootech. 8, 111-112

52. PAREDIS, F. (1961) Onderzoekingen over vruchtbaarheit in kunstmatige inseminatie bij het varken. Mitt.d.tierärztl.Hochschule der Staatsuniversität Gent 5, 63-133

53. POLGE, C. (1956) Artificial insemination in pigs. Vet.Rec. 68, 62-76

54. POLGE, C. (1959) Some experiments of preservation of boar semen. Ann.Zootech. 8, 113-120

55. PRACHOFF, R. (1958) Die Milch als Pufferlösung für Sperma bei künstlicher Besamung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Zuchthyg. 2, 144-150

56. v. PUSCH, U. (1965) Beitrag zur Eberspermakonservierung.Vergleichende Untersuchungen über die Konservierung der spermareichen Haupphasen in eidotterhaltigen und eidotterfreien IVT- und Magermilch-Verdünnern mit Hilfe der CO_2-Inaktivierung. Vet.med.Diss. FU Berlin

57. RIDDEL-SWAN, J.H. (1960) Artificial insemination of pigs in Japan. Brit.Vet.J. 116, 443-447

58. RIKMENSPOEL, R. (1957) An optically clear egg-yolk diluent for bull-spermatozoa. Experientia 13, 124

59. RIKMENSPOEL, R., G. van HERPEN, G.C. van DAM u. P. EIJKHART (1960)
Fotoelektrisch en cinematographish onderzoek van de beweglijkheid van stierenspermatozoa.
I. De meetmethodieken
Tschr. diergeneesk 85,909-933

60. ROHLOFF, D. (1964)
Versuche zur Konservierung von Ebersperma mit Hilfe der CO_2-Inaktivierung unter Verwendung verschiedener Verdünner.
Vet.med.Diss. FU Berlin

61. ROTHE, K. (1960)
Versuche zur Verdünnung und Konservierung von Ebersperma.
Zuchthyg. 4, 173-179

62. ROTHE, K. (1963)
Die künstliche Besamung beim Schwein.
Arch.Exper.Vet.Med. 16, 957-1089

63. SALISBURY, G.W., H.K. FULLER u. E.L. WILLET (1941)
Preservation of bovine spermatozoa in yolk-citrate diluent and field results from its use.
J. Dairy Sci. 24, 905-910

64. SCHAETZ, F. (1963)
Die künstliche Besamung bei den Haustieren.
Fischer, Jena

65. SCHERSTEN, B. (1936)
Studien über das Vorkommen und die biologische Bedeutung des Citrates in den Geschlechtssekreten des Menschen und der Tiere.
Skand.Arch.Physiol. 74, 3-144

66. SMIDT, D. (1964) Untersuchungen zur künstlichen Besamung beim Schwein. Dtsch.tierärztl. Wschr. 71, 369-375 und 408-410

67. SPREMBERG, K. (1963) CO_2-Konservierung von Ebersperma. Vet.med.Diss. HU Berlin

68. SPREMBERG, K. (1964) Laborversuche über die Eignung von Milchverdünnern zur Konservierung von Ebersperma. Fortpfl.d.Haustiere Bd. 1,9-22

69. STRÖM, B.U. u. K. WEDIN (1961) Field trial with optically clear yolk-citrate diluter. Zuchthyg. 5, 258

70. THACKER, D.L., R.J. FLIPSE u. J.O. ALMQUIST (1954) Diluters for bovine semen. II. Effect of milk proteins upon spermatozoan livability. J. Dairy Sci. 37, 220-227

71. VANDEMARK, N.L. u. U.D. SHARMA (1957) Preliminary fertility results from the preservation of bovine semen at room temperature. J. Dairy Sci. 40, 438-439

72. WETTKE, K. u. J.E. HUHN (1962) Beitrag zur Spermagewinnung beim Eber und vergleichende Konservierungsmethoden bei Temperaturen von + 4°C und + 12°C unter besonderer Berücksichtigung eines Magermilchverdünners. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 75, 211-214 u. 221-225

73. WETTKE, K., W. MEYER u. J.E.HUHN (1962) Der Einfluß von Gelatinezusätzen auf die Sedimentation und das Anhalten der Vorwärtsbewegung der Eberspermien bei der + 12°C-Konservierung im Magermilchverdünner und in einem zentrifugierten Na-citrat-Eidotter-Verdünner. Berliner u. Münchener tierärztl. Wschr. 75, 284-287

74. WETTKE, K. u. D. ROHLOFF (1964) Versuche zur Konservierung von Ebersperma durch CO_2-Inaktivierung. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 77, 8-11

75. WILLEMS, C.M. (1959) Kunstmatige inseminatie bij varkens. Tschr. diergeneesk. 84, 208-234

, YOUNG, D.C., A.R. TURKHEIMER u. R.H. FOOTE (1957) Livability of boar sperm stored in various extenders at 5°, 15° and 25°centigrad. J.Anim.Sci. 16, 1111

Lebenslauf

Am 24. Juli 1938 wurde ich, Walter Meyer, als Sohn des Zimmermeisters Christian Meyer und seiner Ehefrau Helene, geborene Golberg, in Maaslingen, Kreis Minden, geboren.

Von August 1944 bis Ostern 1952 besuchte ich die Volksschule in Maaslingen und danach das Staatliche Aufbau-Gymnasium in Petershagen, wo ich am 7. März 1958 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Veterinärmedizin begann ich im Sommersemester 1958 an der Tierärztlichen Hochschule in Hannover und führte es vom Wintersemester 1960/61, meinem 6. Fachsemester, bis zum Abschluß des Staatsexamens am 10. Juni 1963 an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität in Berlin fort.

Nach Ableistung der Praktikantenzeit erhielt ich am 11. Dezember 1963 die Bestallung als Tierarzt.

Am 1. Mai 1964 ließ ich mich in Wulferdingsen, Kreis Minden, als praktischer Tierarzt nieder.

Am Schluß dieser Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. H. J. H e i d r i c h für die Übertragung dieser Aufgabe meinen herzlichen Dank aussprechen.

Herrn Oberassistent Dr. J. E. H u h n und Herrn Dr. K. W e t t k e danke ich für die Anregungen und Unterstützungen bei der Durchführung der Versuche.

Schließlich gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. D. R o h l o f f für die vielseitige Hilfe bei der Abfassung der Dissertation.